

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE PSICOLOGÍA**  
**Departamento de Psicobiología**



**ESTUDIO PSICOFARMACOLÓGICO DE LA  
MODULACIÓN DEL SISTEMA CANNABINOIDE Y SU  
IMPLICACIÓN NEUROCOMPORTAMENTAL EN LA  
ADICCIÓN A LA COCAINA**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR**  
**PRESENTADA POR**

**Gustavo González Cuevas**

Bajo la dirección del doctor  
Miguel Navarro

**Madrid, 2008**

- **ISBN: 978-84-692-0102-2**

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**DOCTORADO EN NEUROCIENCIA**



**ESTUDIO PSICOFARMACOLÓGICO DE LA  
MODULACIÓN DEL SISTEMA CANNABINOIDE Y  
SU IMPLICACIÓN NEUROCOMPORTAMENTAL  
EN LA ADICCIÓN A COCAÍNA**

**(PSYCHOPHARMACOLOGICAL STUDY OF THE MODULATION  
OF THE CANNABINOID SYSTEM AND ITS  
NEUROBEHAVIORAL IMPLICATION IN COCAINE  
ADDICTION)**

**GUSTAVO GONZÁLEZ CUEVAS**

**TESIS DOCTORAL 2007**

**MENCIÓN EUROPEA**

**DIRECTOR: PROF. DR. MIGUEL NAVARRO**



**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**DOCTORADO EN NEUROCIENCIA**



**ESTUDIO PSICOFARMACOLÓGICO DE LA  
MODULACIÓN DEL SISTEMA CANNABINOIDE Y  
SU IMPLICACIÓN NEUROCOMPORTAMENTAL  
EN LA ADICCIÓN A COCAÍNA**

**(PSYCHOPHARMACOLOGICAL STUDY OF THE MODULATION  
OF THE CANNABINOID SYSTEM AND ITS  
NEUROBEHAVIORAL IMPLICATION IN COCAINE  
ADDICTION)**

**GUSTAVO GONZÁLEZ CUEVAS**

**TESIS DOCTORAL 2007**

**MENCIÓN EUROPEA**

**DIRECTOR: PROF. DR. MIGUEL NAVARRO**

# ÍNDICE

**I.- AGRADECIMIENTOS (5)**

**II.- ABSTRACT/RESUMEN (8)**

**III.- SOBRE EL AUTOR (11)**

**IV.- VISIÓN GLOBAL DE LA TESIS (14)**

- **CAPÍTULO 1: NEUROFARMACOLOGÍA BÁSICA DEL SISTEMA CANNABINOIDE (16)**
- **CAPÍTULO 2: BASES NEUROFARMACOLÓGICAS DE LA ADICCIÓN A COCAÍNA (22)**
- **CAPÍTULO 3: INTERACCIONES NEUROFUNCIONALES ENTRE EL SISTEMA CANNABINOIDE Y COCAÍNA (29)**
- **CAPÍTULO 4: FUNDAMENTOS NEUROTEÓRICOS EN LA RECAÍDA A DROGAS DE ABUSO (37)**
- **CAPÍTULO 5: ESTÍMULOS CONDICIONADOS EN LA RECAÍDA A COCAÍNA (44)**
- **CAPÍTULO 6: ESTADOS EMOCIONALES NEGATIVOS EN ADICCIÓN (52)**

- **CAPÍTULO 7: ADICCIÓN E IMPULSIVIDAD (59)**
- **CAPÍTULO 8: ARTÍCULOS (68)**
- **CAPÍTULO 9: DISCUSIÓN INTEGRADORA:  
TRATAMIENTO DE LA ADICCIÓN A COCAÍNA Y  
PERSPECTIVAS FUTURAS (124)**
- V.- CONCLUSIONS/CONCLUSIONES (135)**
- VI.- BIBLIOGRAFÍA (140)**
- VII.- APÉNDICE: METODOLOGÍA (195)**

*A Miguel Navarro  
(1953-2007),  
in memoriam*

## **I.- AGRADECIMIENTOS**

---



## I.- AGRADECIMIENTOS

Esta tesis no hubiera visto la luz sin la generosa colaboración de muchas personas e instituciones a quienes sentidamente expreso mi agradecimiento.

Deseo resaltar un especial reconocimiento a mi director de tesis, el Prof. Dr. Miguel Navarro, desgraciadamente, fallecido recientemente. Gracias por concederme la oportunidad de realizar este trabajo y contar con tu confianza, apoyo y guía durante todo este largo tiempo. Todo el ámbito científico echará en falta tus valiosas contribuciones. Gracias Miguel.

Extender mis gracias al ministerio de Educación y Cultura español por la concesión de una beca de Formación de Profesorado Universitario, y al laboratorio de Psicobiología de la Universidad Complutense de Madrid por acogerme tan gratamente. Igualmente, al departamento de Psicobiología, y especialmente, a su directora, la Dra. Carmen Muñoz Tedó.

No puedo olvidarme de mis compañeros de laboratorio, con los que tantas horas he pasado trabajando y, al mismo tiempo, disfrutando. Gracias Alex, Ana, Coco, Guille, Eva, Fernando, Inmaculada, José Antonio, José Manuel, Luis, Marga, Mateo, Pablo, Patxi, Raquel, Santiago, Teresa, Vicky ...

Al Prof. Dr. Anton N.M. Schoffelmeer y al departamento de Farmacología Médica (sección Psicofarmacología) de la Universidad Libre de Ámsterdam (Holanda). *Dank je wel* Ton por acogerme con los brazos abiertos y hacerme sentirme como en casa. Gracias a Anke, Prof. Dr. de Vries, Donne, Iris, Leontien, Maarten, Mieke, Taco, Tommy, Wendy ...

Al Prof. Dr. Friedbert Weiss y al departamento de Neurociencia Molecular e Integrativa, perteneciente al Instituto de Investigación Scripps. Gracias Bert por mostrarme lo mejor de mí mismo. Gracias también a Chris, Dave, Eric, Prof. Dr. Koob, Harinder, Jade, Janet, Lily, Marco, Nimish, Parsons, Rémi, Rong, Tresa, Tony ...

A mis amigos, con los que tan buenos momentos he compartido: Ana, Cristina, Caroline, Cullen, Isabel, Gema, Isma, Kolko, Koto, Maku, Mihaela, Nick, Nicola, Nik, Pepe ...

Y por supuesto, a mi familia. Que me lo da todo y a la que debo todo.

---

## **II.- ABSTRACT/RESUMEN**

## II.- ABSTRACT

Cocaine dependence continues to be a serious public health problem worldwide. It is characterized by the compulsive and persistent use and seeking of cocaine, which is often followed by a high relapse rate even after long periods of abstinence. Unfortunately, and in spite of the intense research efforts in basic and clinical science, there are no proven pharmacotherapies for this complex neuropsychiatric disorder at present. Conditioning and associative learning, negative emotional states and inhibitory control and impulsivity are considered as important factors that underlie drug-seeking behavior. The work in this thesis has been focused on the role that the cannabinoid system may play in these cognitive processes and their interactions with cocaine addiction in experimental animal models. The results obtained in this study show that, on the one hand, the cannabinoid system is able to modulate cocaine-seeking behavior in extinction and cue-induced reinstatement tests in association with the changes observed in anxiety-like behavior as measured on the elevated plus maze. On the other hand, the administration of various cannabinoid compounds differently modulates several independent measures of the multidimensional construct known as impulsivity, such as inhibitory control, impulsive choice and response inhibition. Taken all together, these findings suggest an important role of the cannabinoid system in neuro-cognitive processes underlying cocaine-seeking behavior and impulsive-like behavior, and that its blocking may be a potential therapeutic tool for treating human cocaine abuse. However, more studies are needed to further elucidate which neuromechanisms are involved.

## II.- RESUMEN

La dependencia a cocaína continua siendo un serio problema de salud a nivel mundial caracterizado por el uso persistente y compulsivo y la conducta de búsqueda de cocaína, la cual está asociada a una elevada tasa de recaída incluso después de largos períodos de abstinencia. Desafortunadamente, a pesar de los intensos esfuerzos realizados en investigación pre-clínica y clínica, no existe actualmente un tratamiento eficaz para este complejo trastorno neuropsiquiátrico. Los condicionamientos y aprendizaje asociativo, los estados emocionales negativos y los procesos de control inhibitorio e impulsivo constituyen importantes factores que subyacen a la búsqueda de drogas de abuso. En esta tesis se ha estudiado el papel que el sistema cannabinoide pudiera ejercer sobre estos procesos cognitivos en sus implicaciones sobre la adicción a cocaína en modelos animales de experimentación. Los resultados ponen de manifiesto, en primer lugar, la modulación ejercida por el sistema cannabinoide sobre la conducta de búsqueda de cocaína, tanto en tests de extinción como de recaída a estímulos condicionados previamente asociados a la autoadministración intravenosa de cocaína, y su estrecha relación con los cambios inducidos en los niveles de ansiedad evaluados en el test del laberinto en cruz elevado. Por otro lado, tras la administración de diferentes compuestos cannabinoides se observa una modulación diferencial sobre medidas independientes de impulsividad tales como control inhibitorio, elección impulsiva e inhibición comportamental. Los hallazgos presentados sugieren que el sistema cannabinoide ejerce una influencia importante sobre la conducta de búsqueda de cocaína y comportamientos impulsivos, y que su bloqueo podría ser una herramienta terapéutica prometedora en el tratamiento de la adicción a cocaína, si bien, serán necesarios más estudios para tener un nivel de conocimiento más profundo y preciso de los mecanismos neuronales subyacentes.

---

### **III.- SOBRE EL AUTOR**

### III.- SOBRE EL AUTOR

Nací un 25 de febrero de 1979 en Madrid (Madrid), España. En 1997 comencé mis estudios de Psicología en la Universidad Complutense de Madrid, donde me gradué cinco años más tarde con la especialidad de Psicología y Ciencia Cognitiva. Durante mi último año de carrera disfruté de una beca de Colaboración en el laboratorio de Psicobiología bajo la dirección del prestigioso Prof. Dr. Miguel Navarro. Durante los siguientes cuatro años, a través de una beca de Formación de Profesorado Universitario (FPU) pude desarrollar mi tesis, en este mismo laboratorio, a la vez que realizaba docencia en asignaturas (de prácticas) como Psicofarmacología o Fundamentos de Neurociencia. Durante el año 2004 realicé una estancia en el departamento de Farmacología Médica (sección Psicofarmacología) de la Universidad Libre de Ámsterdam (Holanda), perteneciente al Instituto de Investigación en Neurociencias, bajo la supervisión del Prof. Dr. Anton N.M. Schoffeleer. Los dos años siguientes, 2005 y 2006, realicé de nuevo estancias en Estados Unidos (La Jolla, California), en el departamento de Neurociencia Molecular e Integrativa, perteneciente al Instituto de Investigación Scripps, bajo la supervisión del Prof. Dr. Friedbert Weiss



### LISTA DE PUBLICACIONES

- López-Moreno JA, Scherma M, Rodríguez de Fonseca F, **González-Cuevas G**, Fratta W, Navarro M (2008). Changed accumbal responsiveness to alcohol in rats pre-treated with nicotine or the cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2. *Neurosci Lett*. Aceptado.
- López-Moreno JA, **González-Cuevas G**, Moreno G, Navarro M (2007). The pharmacology of the endocannabinoid system: functional and structural interactions with other neurotransmitters systems and their repercussions in behavioral addiction. *Addict Biol*. Aceptado.
- **González-Cuevas G**, Aujla H, Martin-Fardon R, López-Moreno JA, Navarro M, Weiss F (2007). Subchronic cannabinoid agonist (WIN 55,212-2) treatment during

cocaine abstinence alters subsequent cocaine seeking behavior. *Neuropsychopharmacology*. 32: 2260-2266.

- Pattij T, Janssen MC, Schepers I, **González-Cuevas G**, de Vries TJ, Schoffelmeer AN (2007). Effects of the cannabinoid CB(1) receptor antagonist rimonabant on distinct measures of impulsive behavior in rats. *Psychopharmacology*. 193: 85-96.
- López-Moreno JA, **González-Cuevas G**, Navarro M (2007). The CB1 cannabinoid receptor antagonist rimonabant chronically prevents the nicotine-induced relapse to alcohol. *Neurobiol Dis*. 25: 274-283.
- López-Moreno JA, Trigo-Díaz JM, Rodríguez de Fonseca F, **González-Cuevas G**, Gómez de Heras R, Crespo-Galán I, Navarro M. (2004). Nicotine in alcohol deprivation increases alcohol operant self-administration during reinstatement. *Neuropharmacology*. 47: 1036-1044.
- López-Moreno JA, **González-Cuevas G**, Rodríguez de Fonseca F, Navarro M. (2004). Long-lasting increase of alcohol relapse by the cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2 during alcohol deprivation. *J Neurosci*. 24: 8245-8252.



---

## **IV.- VISIÓN GLOBAL DE LA TESIS**

## IV.- VISIÓN GLOBAL DE LA TESIS

Esta tesis se ha centrado en el papel del aprendizaje asociativo (condicionamientos), estados emocionales negativos y comportamientos impulsivos en la adicción a cocaína, bajo un marco teórico amplio e integrador, aunque siendo conscientes de que otros procesos también pudieran estar implicados en alguna otra medida. Su objetivo final ha sido el acercamiento experimental de las implicaciones terapéuticas de la modulación del sistema endocannabinoide sobre la adicción a cocaína.

Tras una resumida presentación de la neurofarmacología básica del sistema cannabinoide y de la adicción a cocaína se ha procedido a arrojar luz sobre las posibles interacciones neuro-funcionales entre ambas. A continuación, desde una perspectiva neuro-teórica, cuyo fin fue adentrarnos en sentido amplio y enriquecedor en modelos para la comprensión psicobiológica del comportamiento tan complejo como es la adicción, desgranamos aspectos considerados clave en la misma, como son el papel de los estímulos condicionados en la recaída a cocaína, la importancia de los estados de tinte emocional negativo en adicción y el fraccionamiento de la impulsividad, incluyéndose asimismo sus bases neurocientíficas. De la vinculación de los procesos asociativos con su valencia emocional, postulamos un papel relevante del sistema cannabinoide como regulador múltiple de procesos de reforzamiento secundario y estados emocionales, el cual estudiamos en el primer artículo. Además del papel de la ansiedad y los estímulos previamente emparejados a la autoadministración de cocaína por procesos de condicionamiento asociativo como impulsores de la recaída a cocaína, la impulsividad es también considerada actualmente factor esencial en la conducta de búsqueda de drogas. Sin embargo, aun se requiere mayor número de trabajos experimentales para desentrañar cual es la influencia del sistema cannabinoide en sus diferentes expresiones comportamentales, la cual empezamos a esbozar en el segundo artículo.

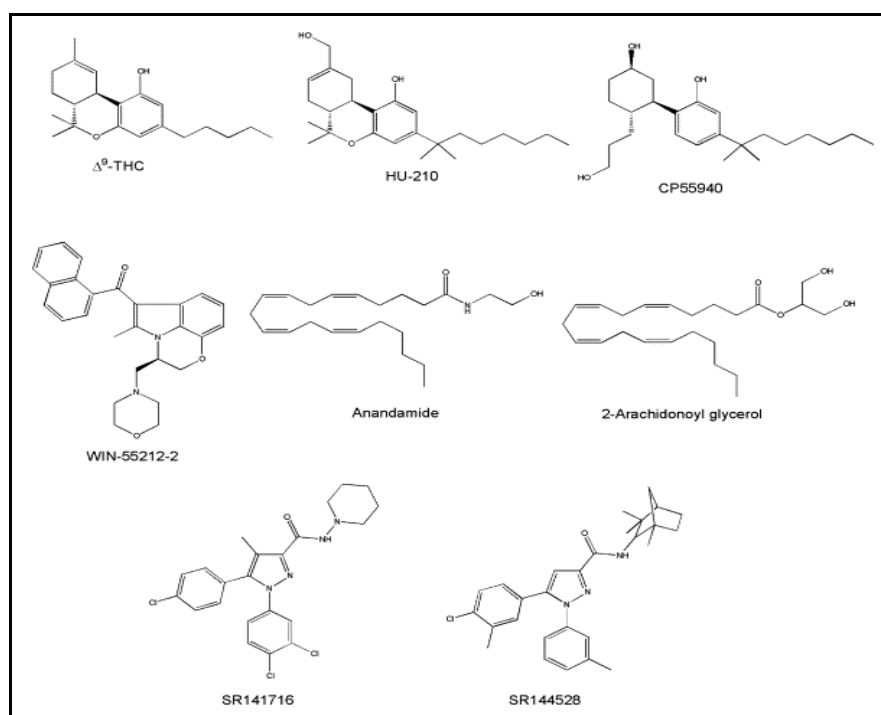
En definitiva, hemos delineado y estudiado la importancia del sistema endocannabinoide (a) como posible terapéutica de la extinción-recaída del hábito adictivo (b) en la modulación de los síntomas afectivos negativos en la abstinencia a cocaína (c) y, finalmente, en la impulsividad, como variable fundamental en la recaída a cocaína.

## **CAPÍTULO 1**

---

## 1.- NEUROFARMACOLOGÍA BÁSICA DEL SISTEMA CANNABINOIDE

El sistema cannabinoide comprende varios tipos de compuestos; los principios activos de la marihuana (*Cannabis Sativa*), sus derivados endógenos y sintéticos (Drysdale y Platt, 2003), así como las enzimas específicas para su producción, inactivación y degradación (Pazos *et al*, 2005). De los 400 compuestos químicos que *Cannabis Sativa* contiene, aproximadamente 60 pueden englobarse como cannabinoides (Dewey, 1986). El principal componente psicoactivo de los extractos del cannabis es delta-9-tetrahidrocannabinol (delta-9-THC) (Gaoni y Mechoulam, 1964). Los dos endocannabinoides más representativos son anandamida (*anandamide*, AEA) (Di Marzo *et al*, 1994) y 2-araquidonil glicerol (*2-arachidonoyl glycerol*, 2-AG) (Mechoulam *et al*, 1995). En cuanto al antagonismo del sistema cannabinoide, el antagonista cannabinoide más conocido es rimonabant o SR141716 (Rinaldi-Carmona *et al*, 1994).



Estructura química de agonistas exógenos (delta-9-THC, HU-210, CP55,940 y WIN 55,212-2) y endógenos (anandamida y 2-araquidonil glicerol) y antagonistas (SR141716 y SR144528) más representativos del receptor cannabinoide (Tomado de Howlett *et al*, 2004)

Hasta la fecha son reconocidas dos subunidades, CB<sub>1</sub> (Matsuda *et al*, 1990) y CB<sub>2</sub> (Munro *et al*, 1993), del receptor cannabinoide, el cual constituye una cadena de 473 aminoácidos con siete dominios hidrofóbicos que se extienden a través de la membrana celular (Barmblett *et al*, 1995). Los receptores CB<sub>1</sub> están localizados principalmente en el sistema nervioso central, mientras que los receptores CB<sub>2</sub> lo hacen, en su mayoría, en la periferia, donde ejercen principalmente sus acciones sobre el sistema inmune (Howlett, 2002). En los años 90 fueron clonados y caracterizados neurobiológicamente los dos receptores para cannabinoides, CB<sub>1</sub> y CB<sub>2</sub>. Sin embargo, actualmente se tiene la sospecha de la existencia de un receptor cannabinoide diferente a los anteriores (Breivogel *et al*, 2001; Hajos *et al*, 2001). Mientras AEA presenta una mayor selectividad funcional por el receptor CB<sub>1</sub>, 2-AG es equipotente para ambos receptores (De Petrocellis, 2004). Además, 2-AG está mayoritariamente representado en el sistema nervioso central con respecto a AEA (Sugiura *et al*, 2002). Por otra parte, también es conocido que los endocannabinoides, especialmente AEA (Di Marzo *et al*, 2001), ejercen sus efectos, en cierto grado, a través de receptores vanilloides (*Transient Receptor Potential Vanilloid 1*, TRPV1), los cuales son canales no selectivos a cationes activados por capsaicina (Zygmunt *et al*, 1999).

Los cannabinoides endógenos son moléculas señalizadoras lipídicas formadas a partir de precursores fosfolípidicos (Gerdeman y Lovinger, 2003) que actúan como mensajeros retrógrados (Ohno-Shosaku *et al*, 2001; Wilson y Nicoll, 2001). Son sintetizados a demanda (Rodríguez de Fonseca *et al*, 2005), liberados de la membrana postsináptica para activar receptores CB<sub>1</sub> localizados, en su mayoría, presinápticamente, y moduladores de la liberación de neurotransmisores (Wilson y Nicoll, 2001; Freund *et al*, 2003). Los endocannabinoides no son almacenados en vesículas, como así lo hacen los neurotransmisores clásicos. En su lugar, son sintetizados cuando así son requeridos, en respuesta a despolarización y la correspondiente entrada de calcio (Piomelli *et al*, 1998).

Como regla general, incrementos y decrementos de la neurotransmisión endocannabinoide resultan, respectivamente, en decrementos e incrementos en la liberación de neurotransmisores, sin embargo hay que tener en cuenta otros factores, como el nivel del tono endógeno regional (Degroot y Nomikos, 2006). Los efectos inhibitorios de los agonistas cannabinoides sobre la liberación de neurotransmisores son mediados esencialmente en el receptor CB<sub>1</sub>, a través de proteínas Gi/o, por medio de decrementos en

la actividad de la vía de AMPc, estimulación de la actividad de proteínas kinasas activadas por mitógenos, inhibición de canales de  $\text{Ca}^{2+}$  tipo N y P/Q y potenciación de corrientes hiperpolarizantes de  $\text{K}^+$  (Schlicker y Kathmann, 2001; Di Marzo *et al*, 2004).

El receptor  $\text{CB}_1$  se encuentra predominantemente en terminales axónicos presinápticos de neuronas glutamatérgicas y GABAérgicas (Katona *et al*, 2001; Kofalvi *et al*, 2005; Hill *et al*, 2007). En el caso de interneuronas GABAérgicas del cortex anterior tan solo parecen contener el receptor  $\text{CB}_1$  aquellas que expresan el neuropéptido colecistoquinina (Freund *et al*, 2003). La señalización retrógrada de los endocannabinoides es fundamental para ciertos tipos de plasticidad sináptica a corto y a largo plazo que tienen lugar tanto en sinapsis excitatorias como inhibitorias en diversas regiones cerebrales, y que constituyen la base de procesos de aprendizaje y memoria (Hashimoto *et al*, 2007). Cuando se produce una reducción de la inhibición mediada por GABA a través de cannabinoides este fenómeno recibe el nombre de supresión de inhibición inducida por despolarización (*Depolarization-induced Suppression of Inhibition*, DSI) (Kreitzer y Regehr, 2001a). Por el contrario, cuando lo que se produce es una reducción de excitación inducida por glutamato, su nombre es, entonces, supresión de la excitación inducida por despolarización (*Depolarization-induced Suppression of Excitation*, DSE) (Kreitzer y Regehr, 2001b).

El proceso de recaptación de cannabinoides tras su liberación es llevado a cabo por proteínas transportadoras específicas que se encuentran tanto en neuronas como en glía. Posteriormente, diversas enzimas intracelulares los degradan. Por ejemplo, AEA es degradada a ácido araquidónico por medio de la enzima amidohidrolasa de ácidos grasos (*Fatty Acid Amide Hydrolase*, FAAH) (Piomelli *et al*, 1998) y 2-AG es degradado por la lipasa monoacilglicerol (*monoacylglycerol lipase*, MGL) (Dinh *et al*, 2004). Mientras FAAH se localiza postsinápticamente controlando así los niveles de AEA en su lugar de síntesis, MGL lo hace presinápticamente, degradando 2-AG en su lugar de acción (Gulyas *et al*, 2004).

El receptor  $\text{CB}_1$  presenta la mayor densidad comparada con cualquier otro receptor acoplado a proteínas G (Herkenham *et al*, 1990) y una densidad similar a receptores de GABA y glutamato (Howlett *et al*, 2004). Sin embargo, existen unos niveles bajos de

endocannabinoides en comparación (Walker *et al*, 1999). Además, esta densamente representado en cortex, hipocampo, amígdala, ganglios basales y cerebelo (Mackie, 2005) y sin diferencias ostensibles entre diferentes especies (Herkenham *et al*, 1990; Herkenham *et al*, 1991; Glass *et al*, 1997). Sin embargo, se ha observado la existencia de un acoplamiento desigual de receptores cannabinoides al activar proteínas G. Por ejemplo, el acoplamiento a proteínas G en hipotálamo es considerablemente mayor de lo que pudiera indicar su relativa baja densidad en receptores CB<sub>1</sub> (Freund *et al*, 2003). Estudios de hibridación *in situ* (Mailleux y Vanderhaeghen, 1992; Matsuda *et al*, 1993; Marsicano y Lutz, 1999) muestran una gran expresión de ARNm del receptor CB<sub>1</sub> en hipocampo, núcleo olfatorio anterior, neocortex y amígdala y con moderados niveles en estriado y cerebelo. Finalmente, estudios de inmunohistoquímica confirman previos resultados obtenidos con las anteriores técnicas (Tsou *et al*, 1998; Egertova y Elphick, 2000).

A nivel neuroquímico, por un lado, el receptor CB<sub>1</sub> colocaliza con los receptores D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub> y 5-HT<sub>1B</sub>, aunque solamente en neuronas con baja expresión del receptor CB<sub>1</sub>, las cuales son neuronas de proyección. Por otro lado, el receptor CB<sub>1</sub> co-expresa junto al receptor 5-HT<sub>3</sub> en neuronas con alta expresión del receptor CB<sub>1</sub>, las cuales son consideradas en su mayoría neuronas GABAérgicas. Mas específicamente; en estriado, el receptor CB<sub>1</sub> co-expresa con D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub> y 5-HT<sub>1B</sub>; en hipocampo, con D<sub>2</sub>, 5-HT<sub>1B</sub> y 5-HT<sub>3</sub>, y en neocortex; junto 5-HT<sub>1B</sub> y 5-HT<sub>3</sub> (Hermann *et al*, 2002). En general, los receptores CB<sub>1</sub> ejercen su principal modo de acción a través de su acción sobre los niveles de glutamato, noradrenalina, dopamina, GABA y serotonina (Drysdale y Platt, 2003).

Región cerebral	Activación del receptor CB1 (por agonistas)	Activación del receptor CB1 (por antagonistas)
Neocortex	↑ NE	↑ NE
	↑ Glu	
	↑ DA	↑ DA
	↓ GABA	
	↑ ACh, ↓ ACh	↑ ACh
		↑ 5-HT
Hipocampo	↑ ACh, ↓ ACh	↑ ACh
	↓ Glu	
	↓ 5-HT	
Núcleo acumbens	↑ Met-enkefalina	
	↑ DA	↔ DA
		↑ 5-HT
		↔ ACh
Estriado	↑ DA	
Globo pálido	↓ GABA	
Área tegmental ventral	↑ β-endorfina	
Cerebro basal anterior	↑ Adenosina	
Hipotálamo	↑ Histamina	↑ NO
		↑ Glu
		↑ NE

Flechas hacia arriba o abajo indican, respectivamente, incrementos o decrementos en concentraciones extracelulares de neurotransmisores (*in vivo* por microdiálisis), mientras que la ausencia de cambios viene indicado por '↔'. 5-HT, serotonina (5-hidroxitriptamina); ACh, acetilcolina; DA, dopamina; GABA, ácido γ-amino butírico; Glu, glutamato; NE, norepinefrina; NO, óxido nítrico (Modificado de Degroot y Nomikos, 2007).



## **CAPÍTULO 2**

---

## 2.- BASES NEUROFARMACOLÓGICAS DE LA ADICCIÓN A COCAÍNA

La cocaína es un poderoso psicoestimulante procedente de las hojas del arbusto *Erythroxylon coca*, cuyo cultivo se realiza, principalmente, en países del altiplano andino, como Bolivia, Colombia y Perú (White y Lambe, 2003).



Arbusto *Erythroxylon coca*

Aunque las diferentes formas de abuso de la cocaína condicionan la farmacocinética, la actividad farmacológica, la toxicidad y el grado de adicción de esta droga (Platt, 1997), nos centraremos básicamente en el clorhidrato de cocaína, el cual es la sal de la cocaína, formada con ácido clorhídrico. Estos cristales escamosos blancos pueden ser tanto esnifados o inyectados intravenosamente (Lizasoain *et al*, 2001).

FORMAS DE ABUSO DE LA COCAÍNA							
TIPO DE SUSTANCIA	CONCENTRACION DE COCAINA	VIA DE ADMINISTRACION	PORCENT. EN PLASMA	VELOCIDAD APARICION DE EFECTOS	CONC. MAXIMA PLASMA	DURACION EFECTOS	DESARROLLO DEPENDENCIA
HOJAS DE COCA	0.5 - 1.5%	Mascado infusión oral	20 - 30%	LENTA	60 Minutos	30- 60 Minutos	NO
CLORHID. COCAINA	12 - 75%	tópica: ocular genital,intranasal (esnifar)	20 - 30%	RELATIV. RAPIDA	5-10 Minutos	30- 60 Minutos	SI LARGO PLAZO
CLORHID. COCAINA	12 - 75%	parenteral: endovenosa subcutanea, intramuscular.	100%	RAPIDA	30-45 Segundos	10-20 Minutos	SI CORTO PLAZO
PASTA DE COCA	40 - 85% (Sulfato de cocaína)	Fumada	70 - 80%	MUY RAPIDA	8-10 Segundos	5-10 Minutos	SI CORTO PLAZO
COCAINA BASE.	30 - 80% (alcaloide cocaína)	Inhalada-fumada	70 - 80%	MUY RAPIDA	8-10 Segundos	5-10 Minutos	SI CORTO PLAZO

Tabla que muestra las diferentes formas de abuso de la cocaína (Lizasoain *et al*, 2001).

La cocaína es altamente reforzante cuando es inyectada intravenosamente. Hasta tal punto, que los animales de experimentación aprenden fácilmente a autoadministrarse la cocaína, e incluso, algunos de ellos abandonan sus necesidades básicas, tales como comida y agua por conseguir la dosis de cocaína, llegando, en algunos casos, a la muerte (Dackis y Gold, 1985). La administración de cocaína por vía endovenosa da lugar a una sensación de corta duración (10-20 minutos), aunque intensamente placentera (a los 30 segundos), descrita como análoga al orgasmo sexual (Lizasoain *et al*, 2001). A continuación, es seguida por una “bajada” que va incrementándose a lo largo del tiempo y se caracteriza por un estado de ansiedad, fatiga, agitación, depresión y a menudo, intensos deseos por consumir más cocaína (Ettenberg, 2004; Breiter *et al*, 1997). En fumadores de pasta de cocaína también se han observado efectos displacenteros (caracterizados por ansiedad, depresión, fatiga y deseo de más cocaína) justo a continuación de los efectos eufóricos (Van Dyke y Byck, 1982).

Antiguas definiciones sobre la adicción consideraban necesaria la presencia de dependencia física. Sin embargo, este criterio ha sido abandonado, ya que drogas tan altamente adictivas, como la cocaína, se asocian con cambios emocionales y

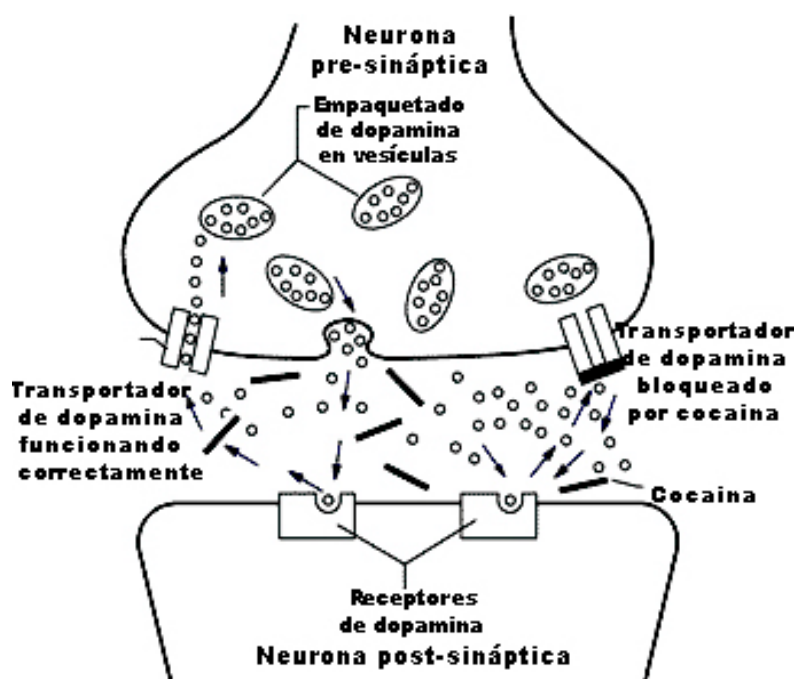
motivacionales del síndrome de abstinencia, en ausencia de síntomas físicos importantes (Nestler *et al*, 2001).

En base a sus mecanismos de reforzamiento positivo, es decir, potenciando el estado de euforia asociado con la cocaína, o negativo, es decir, reduciendo la ansiedad derivada del consiguiente consumo de cocaína, puede explicarse el uso de la cocaína junto con otras drogas de abuso, como alcohol, heroína o cannabis (Gawin, 1991). Por ejemplo, entre el 50% y el 90% de cocainómanos consumen alcohol de forma concomitante. Los efectos reforzantes de la combinación de alcohol y cocaína pueden interpretarse como la suma de sus propiedades reforzantes por separado o en base a los efectos sedativos del alcohol. Estos últimos podrían, por un lado, actuar inicialmente en contra de la excesiva estimulación promovida por la cocaína, o por otro lado, reducir los efectos disfóricos posteriores al consumo de cocaína (Eran *et al*, 1991). Cocatileno es la sustancia psicoactiva resultante de la combinación de cocaína y alcohol. Presenta un perfil farmacológico similar a la cocaína, pero con una duración en su acción farmacológica significativamente mayor (McCance *et al*, 1995). Es de destacar que supone un riesgo y un aumento de la morbi-mortalidad asociada a cocaína. Datos epidemiológicos indican que la ingesta simultánea de alcohol y cocaína aumenta el riesgo de muerte súbita por cocaína hasta en 18 veces (Lizasoain *et al*, 2001).

La cocaína, de igual modo que las anfetaminas, potencia la transmisión monoaminérgica a través de su acción en el transportador de dopamina, aunque no exclusivamente, también en los transportadores de serotonina y noradrenalina (Nestler *et al*, 2001). La cocaína se une e inhibe competitivamente el funcionamiento del transportador de dopamina, incrementando así la duración de la acción de la dopamina que es liberada en el espacio sináptico. De manera similar afecta los transportadores de serotonina y noradrenalina (Ritz *et al*, 1990).

Aunque la cocaína se une al transportador de serotonina aproximadamente cinco veces más potentemente que al transportador de dopamina, y al transportador de noradrenalina aproximadamente tres veces con menor afinidad que al transportador de dopamina (White y Kalivas, 1998), parece que los efectos reforzantes positivos de la cocaína se basan principalmente en su capacidad para bloquear el transportador de

dopamina (Dackis y Gold, 1985), o más bien, en su acción final resultante sobre el neurotransmisor de dopamina (Pierce y Kumaresan, 2006). Sin embargo, aún queda por dilucidar el papel del resto de monoaminas (Filip *et al*, 2005; Weinshenker y Schroeder, 2006) e, incluso, de la propia dopamina (Spanagel y Weiss, 1999; Wise, 2004). Por ejemplo, la potencia reforzante positiva de la cocaína es mantenida en ausencia del transportador de dopamina en ratones *knock out*, pero decrece en ausencia del transportador de noradrenalina. Por otro lado, sus efectos recompensantes se observan en ausencia del transportador de serotonina, pero no cuando están ausentes tanto el transportador de serotonina como el de dopamina (Rocha, 2003).



Acción de la cocaína sobre el transportador de dopamina.

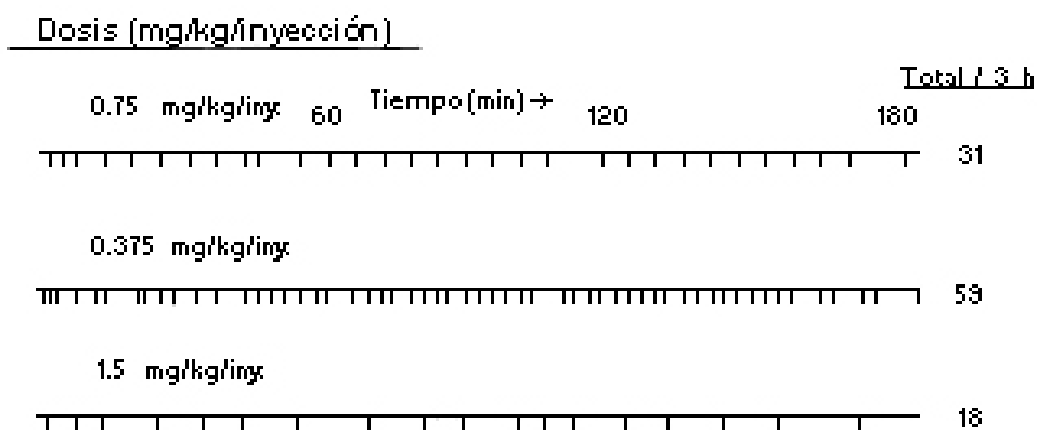
Con la exposición crónica de cocaína se ha demostrado la existencia de una sobre-regulación en el núcleo accumbens del sistema del AMP cíclico y una alteración de la expresión génica (White y Kalivas, 1998; Nestler, 2001; Nestler, 2004), además de cambios morfológicos en el núcleo accumbens y cortex frontal (Robinson *et al*, 2001; Ballesteros-Yanez *et al*, 2007). Estas modificaciones podrían involucrar cambios en la plasticidad sináptica subyacentes a procesos de memoria y aprendizaje (Thomas *et al*, 2001), que también podrían tener lugar durante el período de abstinencia (Lu *et al*, 2002).

Igualmente, se observan cambios duraderos y, a menudo, demorados con el tratamiento crónico de cocaína, conllevando una disminución en la síntesis y liberación de dopamina y densidad reducida de los transportadores de dopamina. Lo que sugiere una regulación a la baja del sistema dopaminérgico y/o degeneración neuronal (Majewska, 1996).

Los efectos reforzantes de la cocaína en ratas fueron primero caracterizados por Pickens y Thompson (1968) y ya desde los primeros estudios en autoadministración intravenosa de cocaína se observan dos características (Tsibulsky y Norman, 1999):

- 1) La regularidad en la autoadministración.
- 2) La tasa de inyecciones esta inversamente relacionada con la dosis de cocaína.

Son numerosos los estudios que restringen el acceso de cocaína a unas pocas horas por día, consiguiendo así un patrón regular y estable de consumo. Por el contrario, un continuo acceso a la droga muestra diferentes patrones en su consumo, incluyendo lo que se conoce como *binge* o consumo excesivo (Ahmed y Koob, 1998), aunque a veces este patrón de consumo excesivo se muestra también al inicio de las sesiones regulares de autoadministración (Gardner, 2000).



Patrones típicos en el consumo de cocaína autoadministrada intravenosamente por animales de experimentación (ratas), según diversas dosis (Modificado de Koob, 2000)

Dentro de un rango de dosis que mantienen una respuesta estable en un programa de razón fija, los animales incrementan su tasa de autoadministración cuando la dosis aumenta. E inversamente, la bajan cuando la dosis sube (Caine *et al*, 1993). Este fenómeno sugiere que los animales regulan su intoxicación de cocaína según alguna referencia endógena que señala el máximo valor hedónico (Koob, 1996). Las manipulaciones farmacológicas que eleven la tasa de autoadministración en un programa de razón fija, de forma parecida a como lo hace el disminuir la dosis, causan un desplazamiento a la derecha en la curva dosis-efecto (una disminución en la potencia reforzante positiva de la cocaína) (Koob, 2000). Bajas a moderadas dosis de antagonistas del receptor de dopamina incrementan la autoadministración de una forma parecida a como lo hace el disminuir la dosis de cocaína. Esto sugiere, que el bloqueo parcial de receptores de dopamina por antagonistas competitivos reduce la potencia en el refuerzo de la cocaína. Y al contrario, los agonistas de dopamina disminuyen la autoadministración de cocaína de una manera similar a como lo hace el aumento de la dosis cocaína.

Una estructura que se ha implicado extensivamente en la adicción a drogas es el núcleo accumbens, la cual se cree básica en los efectos reforzantes positivos de la cocaína (Roberts *et al*, 1977). Mientras durante la autoadministración intravenosa de cocaína se observa un incremento en la liberación de dopamina (Di Ciano *et al*, 1995) y serotonina (Parsons *et al*, 1995) en el núcleo accumbens, sendos decrementos de los niveles de dopamina y serotonina tienen lugar durante la abstinencia en esta misma estructura (Parsons *et al*, 1995). Además, otras estructuras cerebrales están implicadas en la adicción a cocaína, en mayor o menor medida, dependiendo de la fase de la adicción en la que nos encontremos. Por ejemplo, en estudios de neuroimagen en humanos se observan incrementos en la actividad neuronal en el cortex orbitofrontal, cortex prefrontal y cortex cingulado durante la administración aguda de cocaína (Breiter *et al*, 1997). Por el contrario, durante la fase de abstinencia se aprecian mayores decrementos en la actividad neuronal en estas mismas estructuras, junto a una reducción de receptores de dopamina D<sub>2</sub> en regiones fronto-estriales (Volkow *et al*, 1993). Durante la exposición a estímulos medioambientales previamente asociados con cocaína hay una re-activación de estas mismas regiones, más activación de la amígdala (Childress *et al*, 1999).

## **CAPÍTULO 3**

---



### 3.- INTERACCIONES NEUROFUNCIONALES ENTRE EL SISTEMA CANNABINOIDE Y COCAÍNA

El uso recreativo conjunto de cocaína y marihuana está ampliamente extendido (Rush *et al*, 1998), llegando a consumir marihuana hasta un 89% de los cocainómanos (Smart *et al*, 1990). En el caso específico de la población española esta cifra es muy similar; un 81,6% de los consumidores de cocaína han probado el cannabis (PNSD, 2006). Además, un 53% de los adictos a cocaína resultan también ser dependientes a cannabis (Miller *et al*, 1990). Incluso, un 98% de adictos a cocaína parecen consumir cannabis antes de convertirse en adictos a cocaína (Miller *et al*, 1985; O'Malley *et al*, 1985). Finalmente, el uso combinado de cocaína y marihuana ha sido demostrado en más de 200 muertes por abuso de drogas (DAWN, 1996).

Existen estudios que sugieren una relación estrecha entre ambas drogas (Kandel *et al*, 1997; Fergusson y Horwood, 2000; Degenhardt y Hall, 2001; Von Sydow *et al*, 2001). En el caso de humanos, el pre-tratamiento con delta-9-THC, principal principio activo del cannabis, dobló los niveles en plasma de cocaína en voluntarios que recibieron cocaína intranasalmente. La duración y el número de efectos eufóricos positivos se incrementó después del pre-tratamiento con delta-9-THC, mientras la duración de los efectos disfóricos disminuyó (Lukas *et al*, 1994). En otro estudio realizado por Foltin *et al* (1993), voluntarios sanos que primero fumaban marihuana y después tomaban cocaína, informaban de una mayor “subida” o “estimulación” que tomando las drogas por separado. Estudios genéticos ponen de manifiesto una mayor predisposición al consumo y dependencia de cocaína por polimorfismo del triplete AAT en el gen que codifica para el receptor CB<sub>1</sub> (Ballon *et al*, 2006; Comings *et al*, 1997).

Estudios con animales de experimentación también han arrojado luz en las interacciones entre la cocaína y el sistema cannabinoide. Se ha demostrado en ratones que el pre-tratamiento con delta-9-THC, aunque en menor efecto que con cannabidiol, incrementa las concentraciones cerebrales y las acciones farmacológicas de la cocaína (Reid y Bornheim, 2001). Planteando el tema de si este pre-tratamiento con cannabinoides podría hacer más vulnerable al individuo a su consumo posterior de cocaína (Arnold *et al*,

1998), se ha observado un riesgo de recidiva en el abuso de cocaína tras un período prolongado de abstinencia en ratas tratadas con el potente cannabinoide agonista HU-210 (De Vries *et al*, 2001). Sin embargo, tras tratamiento con delta-9-THC, Schenk y Partridge (1999) no encontraron un mayor riesgo de recaída.

Es de destacar que la activación de receptores CB<sub>1</sub> por el agonista sintético WIN 55,212-2 conlleva una reducción en la autoadministración de cocaína, que podría ser debida a los efectos reforzantes positivos producidos por el propio agonista cannabinoide (Fattore *et al*, 1999). Ahora bien, la estimulación aguda de los receptores CB<sub>1</sub> a través de este agonista cannabinoide no afecta a la auto-estimulación basal del sistema de recompensa, aunque sí reduce los efectos reforzantes inducidos por la cocaína (Vlachou *et al*, 2003). Por otro lado, el antagonista cannabinoide SR 141716 es capaz de revertir el efecto inducido por WIN 55,21-2 en autoadministración intravenosa de cocaína y de, por sí mismo, disminuir el valor reforzante de la auto-estimulación intracraneal (Deroche-Gamonet *et al*, 2001).

Algunos autores han demostrado la autoadministración intravenosa del agonista sintético WIN 55,212-2 en ratones (Martellotta *et al*, 1998) y ratas (Fattore *et al*, 2001), la autoadministración intravenosa de AEA (Justinova *et al*, 2005) y de AM404 (Justinova y Goldberg, 2005) y la autoadministración intracerebroventricular del potente agonista cannabinoide CP 55,940 (Braida *et al*, 2001). Igualmente, se ha conseguido la autoadministración intravenosa de delta-9-THC en monos ardilla, pero con una historia previa de autoadministración de cocaína (Tanda *et al*, 2000). Curiosamente, en ratas parece que la pre-exposición a delta-9-THC podría incrementar los efectos ansiogénicos de la cocaína y de esta manera, reducir el valor reforzante de la misma (Panlilio *et al*, 2006).

Debido a que la iniciación en la autoadministración de cocaína esta esencialmente determinada por las propiedades reforzantes positivas de la cocaína, en contraste a la fase de consolidación (van Ree *et al*, 1999), es importante resaltar la falta de implicación del receptor CB<sub>1</sub> en la sensibilización motora inducida por cocaína, ya sea utilizando antagonistas como SR 141716 (Lesscher *et al*, 2004) o ratones *knock out* del receptor CB<sub>1</sub> (Martin *et al*, 2000). Hay que reseñar, sin embargo, que recientemente se ha informado de

que rimonabant es capaz de reducir la sensibilización motora a cocaína durante su expresión (Filip *et al*, 2006).

Aunque hay estudios con modelos animales que sugieren que el bloqueo del receptor cannabinoide mediante el antagonista del receptor cannabinoide CB<sub>1</sub>, SR 141716, es capaz de aliviar el deseo por alcohol y heroína (Gallate y McGregor, 1999; Freedland *et al*, 2001; Caille y Parsons, 2003; Solinas *et al*, 2003; Colombo *et al*, 2004), no parece que ocurra de igual manera en el caso de la cocaína. Por un lado, la administración de rimonabant no altera la autoadministración de cocaína en monos (Tanda *et al*, 2000), ratas (Fattore *et al*, 1999; De Vries *et al*, 2001; Caille y Parsons, 2003) o ratones (Lesscher *et al*, 2004). Por otro lado, en ratones carentes del receptor CB<sub>1</sub> no se aprecian alteraciones en la autoadministración de cocaína (Cossu *et al*, 2001) o paradigma de lugar preferente (Martin *et al*, 2000). En la misma línea, ni la carencia del receptor CB<sub>1</sub> en ratones (Soria *et al*, 2005), ni rimobant en ratas (Caille y Parsons, 2003) altera los niveles de dopamina en el núcleo accumbens tras administración aguda de cocaína. Además, el tratamiento agudo de cocaína en ratas no altera los niveles de endocannabinoides en esta misma estructura (Caille *et al*, 2007). Por tanto, los mecanismos que subyacen a los efectos reforzantes primarios de la cocaína no se ven sujetos a control endógeno tónico por parte del sistema cannabinoide (Fattore *et al*, 1999), ya que tanto el antagonismo farmacológico como la eliminación del receptor CB<sub>1</sub> no altera los efectos recompensantes agudos de la cocaína.

Por el contrario, los receptores CB<sub>1</sub> parecen estar involucrados en la asociación de estímulos medioambientales y la recompensa a cocaína, además de a la recaída a cocaína (Arnold, 2005; De Vries y Schoffelmeer, 2005, Maldonado *et al*, 2006). Lo que viene a demostrar una disociación entre los mecanismos que imperan durante la recaída y aquellos que controlan la autoadministración (Shalev *et al*, 2002; Kalivas y Volkow, 2005; Epstein, 2006). En esta misma línea, el antagonista cannabinoide SR 141716, administrado durante la fase de condicionamiento, es capaz de reducir el condicionamiento de lugar preferencial inducido por cocaína (Chaperon *et al*, 1998) o de disminuir la recaída en ratas abstinentes a cocaína tanto en presencia de estímulos condicionados como de dosis de recuerdo (*priming*) de cocaína (De Vries *et al*, 2001).

Al examinar los niveles de endocannabinoides en diversas regiones cerebrales relevantes al circuito de recompensa en ratas tratadas crónicamente con cocaína, no se observan cambios notables (González *et al*, 2002a); tan sólo un ligero descenso en los niveles de 2-AG en el área límbica anterior (que incluye al núcleo accumbens y la amígdala basolateral). Aunque si se ha observado la existencia de modificaciones en la expresión del gen para el receptor CB<sub>1</sub> (González *et al*, 2002b). No sólo se ha encontrado una disminución en la expresión del receptor CB<sub>1</sub> en la corteza cerebral sino también disminuciones en los niveles de ARNm para CB<sub>1</sub> en el núcleo hipotalámico ventromedial, el cual forma parte del eje de estrés. Es sabido que los cannabinoides endógenos facilitan los efectos de neuronas liberadoras de orexina en el hipotálamo, las cuales también tienen proyecciones al núcleo accumbens y el área tegmental ventral. De la misma manera que los cannabinoides, las orexinas hipotálamicas están involucradas en los efectos de las drogas de abuso y el comportamiento de recaída (Maldonado *et al*, 2006).

Existe una co-expresión de receptores CB<sub>1</sub> con receptores dopaminérgicos en el cerebro (Hermann *et al*, 2002). Ambas drogas, la cocaína y los agonistas cannabinoides, comparten ciertos efectos neuroquímicos clave, como la elevación de la cantidad de dopamina en el núcleo accumbens (Gardner y Lowinson, 1991; Gardner y Vorel, 1998). Sin embargo, el hecho de que tanto ratones *knock out* del receptor CB<sub>1</sub> como ratones *naive* incrementen de manera similar (no difieren o se potencian sus efectos) los niveles extracelulares de dopamina en el núcleo accumbens tras inyección aguda de cocaína (Cossu *et al*, 2001; Soria *et al*, 2005) indica que otras áreas cerebrales y otros sistemas de neurotransmisión pudieran estar mediando crucialmente la interacción entre estas drogas de abuso. De hecho, al ser mínima la densidad y expresión del receptor CB<sub>1</sub> tanto en el área tegmental ventral como en el núcleo accumbens (Mailleux y Vanderhaeghen, 1992), otras estructuras que inervan el núcleo accumbens cobran especial relevancia, como el cortex prefrontal y la amígdala basolateral, las cuales contienen gran densidad de receptores CB<sub>1</sub> (Tsou *et al*, 1998; Egertova y Elphick, 2000).

Resumiendo, son dos los neurotransmisores que generan cannabinoides. Por un lado, dopamina libera AEA en el estriado dorsal al estimular receptores D<sub>2</sub> de dopamina (Giuffrida *et al*, 1999). Por otro lado, glutamato induce la formación de 2-AG en el cortex, a través de receptores NMDA (Piomelli, 2001). Aunque como hemos visto anteriormente

el sistema cannabinoide no parece modular el reforzamiento primario de la cocaína, con relación al reforzamiento secundario, esencial en la recaída, pudiera encontrarse una explicación basada en el sistema dopaminérgico. Esta relación entre dopamina y endocannabinoides podría sintetizarse en tres hipótesis (De Vries *et al*, 2001)

- 1) Los niveles elevados de dopamina producidos por cocaína o estímulos condicionados a la cocaína inducen la liberación de endocannabinoides, los cuales llevan a la recaída.
- 2) La cocaína o los estímulos condicionados a la cocaína elevan los niveles de endocannabinoides, los cuales causan la recaída al incrementar la liberación de dopamina.
- 3) Mediante el papel desinhibitorio de los endocannabinoides en la transmisión dopaminérgica. Los receptores CB<sub>1</sub> se encuentran en gran número en los axones terminales de interneuronas GABAérgicas en todo el sistema nervioso central. La activación de estos receptores inhibe la liberación de GABA. A su vez, las interneuronas GABAérgicas influyen fuertemente la actividad dopaminérgica.

Es conocido que los endocannabinoides actúan como mensajeros de señalización retrograda en sinapsis glutamatergicas y GABAérgicas y modulan la transmisión postsináptica al interactuar con otros muchos neurotransmisores (Wilson y Nicoll, 2002). En este sentido, los cannabinoides podrían actuar en receptores presinápticos localizados en neuronas glutamatergicas de origen cortical y con eferencias hacia el núcleo accumbens. El consecuente decremento en la liberación de glutamato desinhibiría neuronas GABAérgicas del área tegmental ventral, a su vez, liberando dopamina en el núcleo accumbens (Szabo *et al*, 2002).

Como ya vimos, los receptores CB<sub>1</sub> tienen una sorprendente alta densidad en la amígdala basolateral, pero también en el hipocampo y en el cortex prefrontal. Los cannabinoides podrían reducir el control inhibitorio tónico GABAérgico sobre células piramidales en la amígdala basolateral. De esta manera, el tratamiento con cannabinoides podría resultar en una excitabilidad incrementada asociada con un incremento de dopamina en el núcleo accumbens (Katona *et al*, 2001).

La cocaína es capaz de inhibir la transmisión GABAérgica en el estriado a través de la activación de receptores D<sub>2</sub> localizados en terminales presinápticos de interneuronas GABAérgicas (Centonze *et al*, 2004). Recientemente, se ha observado que la administración crónica de cocaína altera la modulación de sinapsis GABAérgicas (pero no glutamatérgicas) estriatales por activación de receptores CB<sub>1</sub> (Centonze *et al*, 2007). A través de la estimulación de receptores D<sub>2</sub> se incrementan los niveles de AEA (estimulando su síntesis e inhibiendo su degradación) en el estriado (Giuffrida *et al*, 1999), una estructura esencial en el carácter compulsivo y de la toma de drogas en fases avanzadas de la adicción (Gerdeman *et al*, 2003), la recaída a estímulos condicionados (Volkow *et al*, 2006) y en impulsividad (Cardinal *et al*, 2001; Pothuizen *et al*, 2005; Dalley *et al*, 2007). Otros autores postulan que a través de las interacciones con el receptor D<sub>3</sub>, el receptor CB<sub>1</sub> podría alterar la recaída a estímulos condicionados (Le Foll y Goldberg, 2005).

Por otro lado, el antagonista cannabinoide CB<sub>1</sub>, AM251, inhibe la recaída a cocaína provocada por *priming* de cocaína por un mecanismo glutamatérgico (Xi *et al*, 2006). La liberación de glutamato en el núcleo accumbens por desinhibición mediada por el receptor CB<sub>1</sub> activaría los receptores presinápticos glutamatérgicos mGluR2/3, los cuales podrían inhibir, a su vez, la liberación de glutamato en el núcleo accumbens mediada por la recaída a cocaína (Kalivas *et al*, 2003; Xi *et al*, 2006). Curiosamente, resaltar, que al igual que con el receptor CB<sub>1</sub>, la activación del receptor glutamatérgico mGluR2/3 altera la recaída a estímulos condicionados mientras que su papel se reduce en cuanto a la modulación de las propiedades reforzantes primarias de la cocaína (Baptista *et al*, 2004). Aunque hallazgos indican que estímulos condicionados al consumo previo de cocaína son capaces de incrementar los niveles de glutamato (Hotsenpiller *et al*, 2001) en el *core* del núcleo accumbens (Hollander y Carelli, 2007), aún se desconoce el alcance de las interacciones entre el sistema cannabinoide y la transmisión glutamatérgica en la recaída a estímulos condicionados. Por ejemplo, no podría descartarse un efecto indirecto desde el cortex prefrontal, donde la activación del receptor CB<sub>1</sub> suprime la transmisión glutamatérgica (Auclair *et al*, 1999), ya que la vía glutamatérgica que liga el cortex frontal con el *core* del núcleo accumbens esta implicada íntimamente en la conducta de búsqueda de drogas (McFarland *et al*, 2003).

### EFFECTOS DE LA MODULACIÓN DE LA TRANSMISIÓN ENDOCANNABINOIDE SOBRE LA RECOMPENSA A COCAÍNA EN DIFERENTES MODELOS ANIMALES

MODELO	ESPECIE	TRATAMIENTO	EFFECTO	AUTORES
EIC	Rata	SR 141716	Sin cambios	Vlachou et al (2003)
AAI	Mono	SR 141716	Sin cambios	Tanda et al (2000)
	Rata	SR 141716	Sin cambios	De Vries et al (2001) Caille y Parsons (2003)
	Ratón	SR 141716	Sin cambios	Lesscher et al (2004)
	Ratón	CB1 KO	Sin cambios	Cossu et al (2001)
	Ratón	CB1 KO	Altera la adquisición	Soria et al (2005)
AAI: razón progresiva	Ratón	CB1 KO	Tasa de respuesta reducida	Soria et al (2005)
AAI: recaída	Rata	SR 141716	Tasa de respuesta reducida en recaída a cocaína y estímulos condicionados pero no a estrés	De Vries et al (2001) Filip et al (2006)
CLP	Rata	SR 141716	Altera adquisición pero no expresión	Chaperon et al (1998)
	Ratón	CB1 KO	Sin cambios	Martin et al (2000) Houchi et al (2005)
Sensibilización motora	Rata	SR 141716	Altera la expresión	Filip et al (2006)
	Ratón	CB1 KO	Sin cambios	Martin et al (2000) Houchi et al (2005)

### EFFECTOS DE LA MODULACIÓN EXÓGENA DEL SISTEMA CANNABINOIDE SOBRE LA RECOMPENSA A COCAÍNA EN DIFERENTES MODELOS ANIMALES

MODELO	ESPECIE	TRATAMIENTO	EFFECTO	AUTORES
EIC	Rata	WIN 55,212-2	Reduce las propiedades reforzantes de la cocaína	Vlachou et al (2003)
AAI	Rata	WIN 55,212-2	Reduce la tasa de respuesta	Fattore et al (1999)
	Rata	HU-210	Incrementa la tasa de respuesta	De Vries et al (2001)
	Rata	Delta9-THC	Reduce la tasa de respuesta	Panlilio et al (2006)
AAI: razón progresiva	Rata	Delta9-THC	Reduce la tasa de respuesta	Panlilio et al (2006)
AAI: recaída	Rata	Delta9-THC	Sin cambios	Schenk y Partridge (1999)
CLP: extinción	Rata	Delta9-THC, cannabidiol	Potencia la extinción	Parker et al (2004)
Sensibilización cruzada	Rata	CP 55,940	Sin cambios	Arnold et al (1998)
	Rata	HU-210	Sin cambios	Ferrari et al (1999)

EIC: Estimulación Intracraneal; AAI: Autoadministración Intravenosa; CLP: Condicionamiento de Lugar Preferencial; KO: *Knock out* (Modificado de Arnold, 2005).

## **CAPÍTULO 4**

---



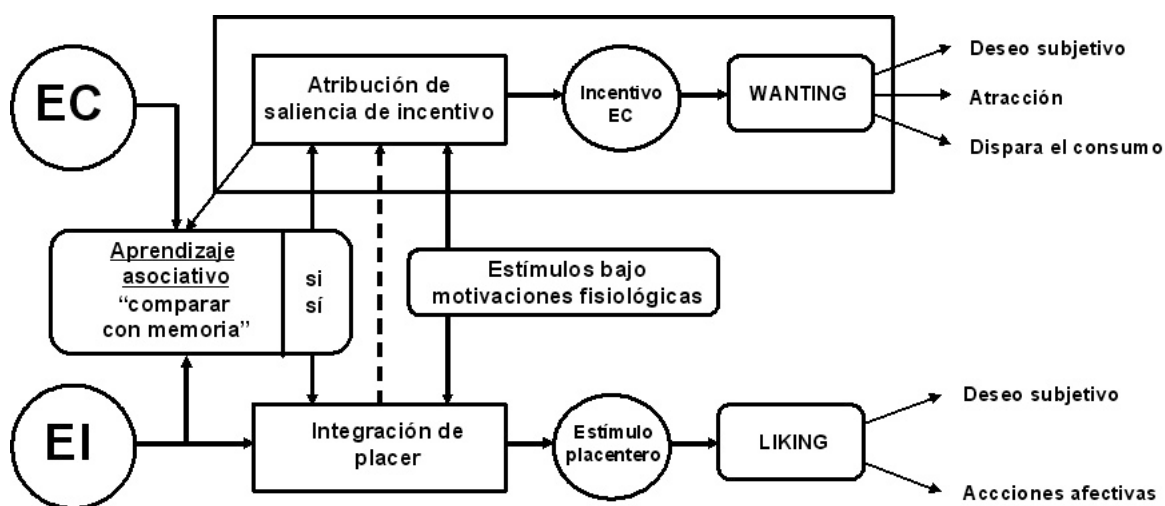
## 4. – FUNDAMENTOS NEUROTEÓRICOS DE LA RECAÍDA A DROGAS DE ABUSO

Las diferentes teorías sobre adicción tienen asociados distintos substratos psicobiológicos, a veces solapados, pero no excluyentes. Mayoritariamente, es aceptado que la droga de abuso puede actuar tanto como reforzador positivo (al producir euforia; especialmente en fases iniciales) como negativo (al aliviar síntomas del síndrome de abstinencia o meramente disfóricos). El uso compulsivo de drogas en humanos está asociado con *craving* o deseo de volver a experimentar los efectos psicoactivos de la droga y puede venir reflejado por la conducta de búsqueda de drogas (*drug seeking behavior*) (Olmstead, 2006). Estímulos ambientales previamente asociados con el consumo de la droga pueden inducir respuestas condicionadas en ausencia de la droga (Camí y Farré, 2003) y provocar, así, la conducta de búsqueda de droga. Estos estímulos, consecuentemente, actúan como reforzadores secundarios y adquieren saliencia emocional y propiedades motivacionales a través de un proceso de asociación predictiva con la autoadministración de la droga. Sin embargo, no sólo los diferentes estímulos (estímulos previamente asociados a la droga, estresores y re-exposición a la misma droga) que conducen a la recaída, sino también procesos comportamentales como los derivados de las consecuencias negativas de la abstinencia son importantes en la adicción (Maldonado *et al*, 2006). Finalmente, la conducta adictiva es insensible a las consecuencias aversivas derivadas del consumo de drogas (Vanderschuren y Everitt, 2004). Con el término general de impulsividad se entiende la incapacidad del adicto para inhibir su compartimiento de búsqueda de drogas, si bien, psicobiológicamente existen diferentes expresiones del comportamiento impulsivo.

A continuación, y sin la pretensión de ser exhaustivos, se delinea someramente algunas de las principales teorías en el campo de la adicción, con el fin de enfatizar y abarcar el carácter globalizador e integrador del concepto de adicción.

### 4.1.- SENSIBILIZACIÓN-INCENTIVO

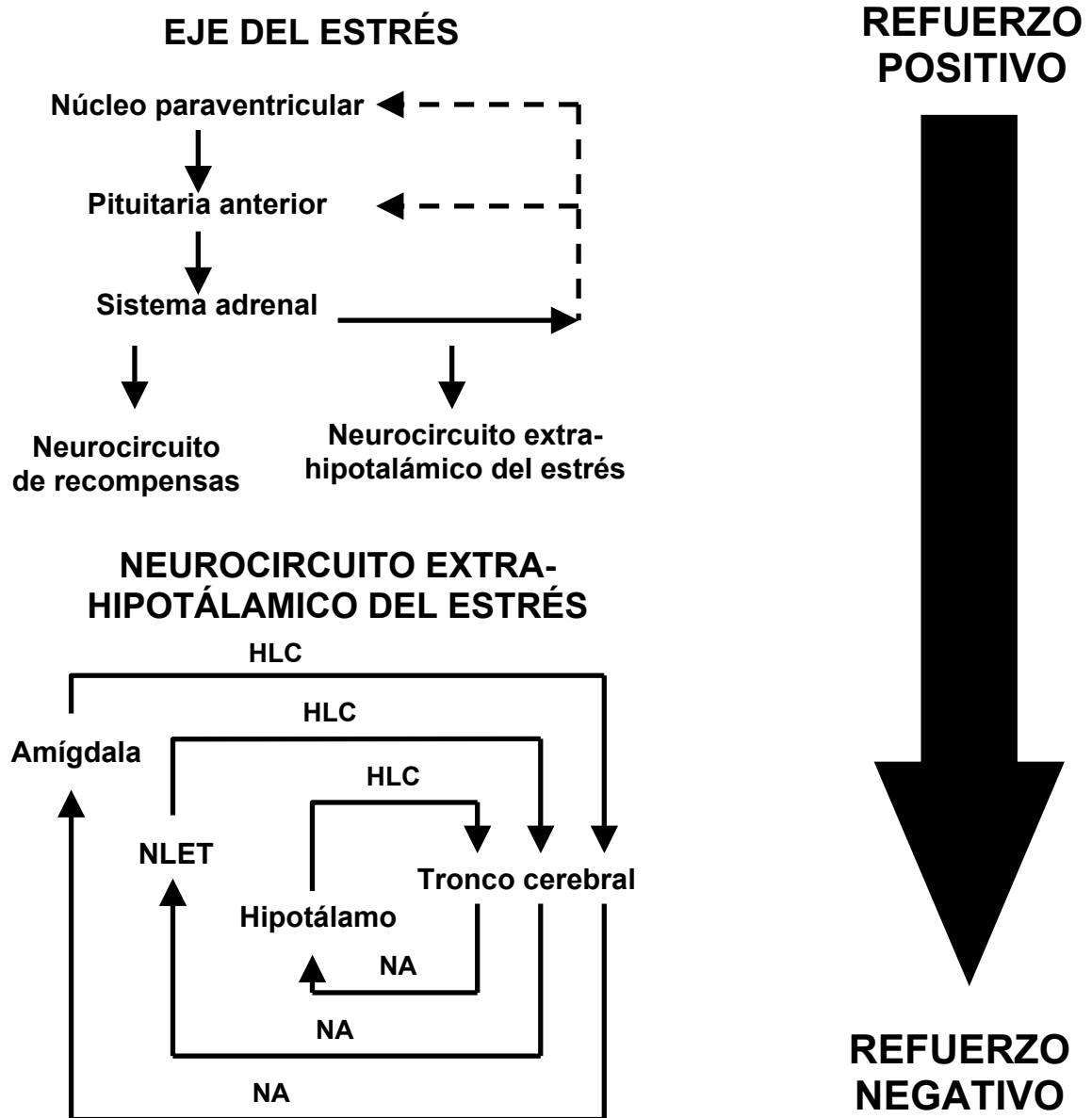
Robinson y Berridge (2003) postulan que no hay relación causal entre los efectos placenteros de la toma de drogas (*drug liking*) y la motivación (*craving*) para la toma de drogas (*drug wanting*). Unicamente los procesos psicológicos de saliencia de incentivo (de motivación para la toma de drogas) se sensibilizan a través de procesos de aprendizaje asociativo, especialmente dirigidos a estímulos previamente emparejados con la droga y desencadenantes de la recaída. Esta exagerada motivación para la búsqueda de drogas conllevaría su uso compulsivo. La sensibilización psicomotora característica de la adicción funcionaría en paralelo a la sensibilización de la actividad del sistema dopaminérgico mesolímbico (Robinson y Berridge, 1993).



Los procesos psicológicos y las bases neurales que median el placer (*liking*) y la saliencia de incentivo (*wanting*) en la adicción son disociables. Los incentivos naturales (estímulos incondicionados como la cocaína: EI) generan placer directamente, pero activan respuestas de búsqueda de droga y saliencia de incentivo indirectamente. Mediante un proceso de aprendizaje asociativo (por emparejamientos sucesivos) los estímulos condicionados (EC) adquieren saliencia de incentivo bajo determinados estados fisiológicos. La sensibilización de los substratos neurales de la saliencia de incentivo por consumo repetido de cocaína conduce a una búsqueda patológica (*wanting*) de cocaína desencadenada por estímulos condicionados, incluso ante la falta de placer (*liking*) (Robinson y Berridge, 1993).

## 4.2.- ESTADOS EMOCIONALES NEGATIVOS

Para Koob (2004) la adicción es un trastorno que progresa desde la impulsividad (caracterizada por un incremento de tensión o *arousal* antes de cometer un acto impulsivo) a la compulsión (caracterizado por estrés y ansiedad antes de cometer un acto repetitivo compulsivo y, posterior alivio del estrés al realizar ese acto). La progresiva aparición de un estado emocional negativo (disforia, ansiedad o irritabilidad), cuando no se tiene acceso a la droga, va asociado a la transición desde el uso de la droga a la verdadera adicción (Koob y Le Moal, 2001). La manifestación de este estado hedónico disfuncional durante el uso crónico de la droga tendría su substrato neurobiológico en la división central de la amígdala extendida (núcleo central de la amígdala, núcleo del lecho de la estría terminal y un área de transición en la región del *shell* del núcleo accumbens) (Koob *et al*, 1998).



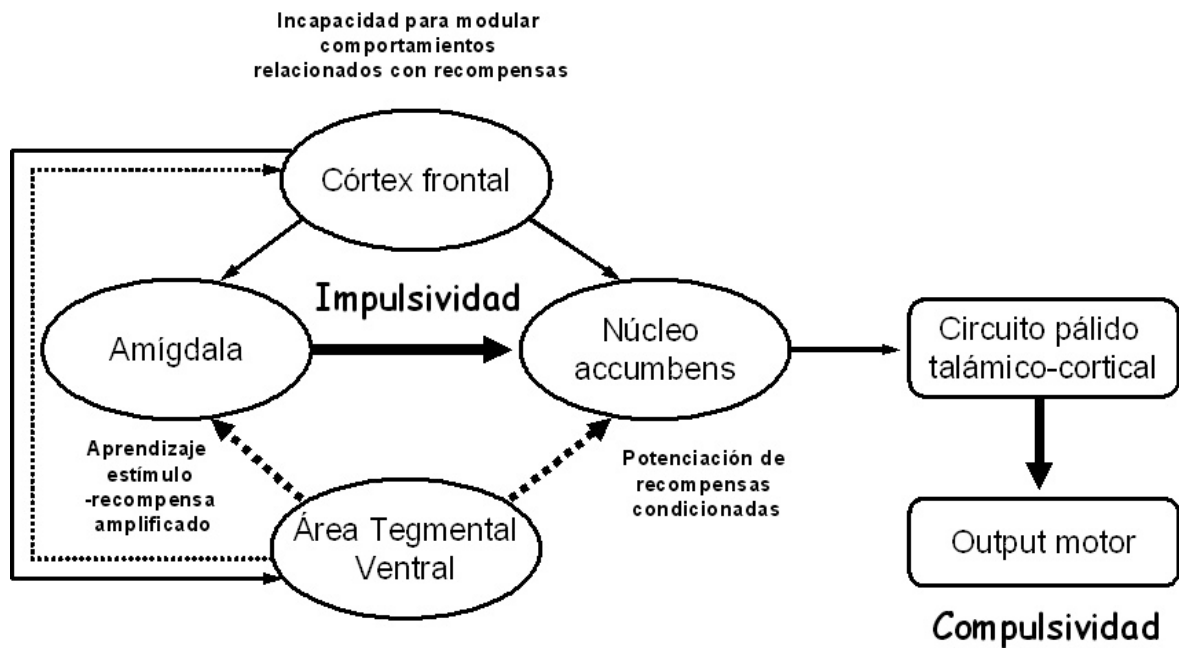
El eje del estrés y los circuitos cerebrales relacionados con el estrés son activados durante el ciclo adictivo cuando existe un direccionamiento desde el refuerzo positivo al refuerzo negativo. El eje del estrés es capaz de autorregularse y activar a su vez el circuito de la recompensa, además de participar activamente en el neurocircuito extrahipotalámico del estrés. La hormona o factor liberador de corticotrofina (HLC) liberada en la amígdala extendida (incluyendo el núcleo del lecho de la estría terminal NLET) afecta a la liberación de noradrenalina en el tronco cerebral en un circuito cerrado (Koob y Le Moal, 2004).

### 4.3.- IMPULSIVIDAD

Según Jentsch y Taylor (1999), el consumo crónico de cocaína se encontraría asociado con una disfunción dopaminérgica del cortex frontal que produciría una incapacidad para inhibir tanto respuestas condicionadas como no condicionadas a la cocaína. La adicción a cocaína vendría definida por dos fenómenos: 1) Un incremento de las propiedades motivacionales y de saliencia de la cocaína y de sus estímulos asociados (debido a disfunción límbica-amigdalal) 2) Un decremento del control inhibitorio (debido a disfunción del cortex frontal).

Tiffany (1990) postula que la adicción puede explicarse a través del aprendizaje de hábitos estímulo-respuesta. Aunque inicialmente el consumo de la droga es un proceso dirigido, posteriormente se convierte en automático, disminuyendo el control inhibitorio ejercido por el individuo, y cobrando especial relevancia los estímulos asociados a la droga como desencadenantes de este hábito estímulo-respuesta. Neurotransmisión dopaminérgica en el estriado dorsolateral estaría mediando los aspectos compulsivos de la búsqueda de drogas basándose en esta teoría (Miller y Gold, 1994; Porrino *et al*, 2004; Vanderschuren *et al*, 2005).

En estudios de neuroimagen, Goldstein y Volkow (2002) observan que la disfunción del cortex prefrontal altera el control inhibitorio y la toma de decisiones, contribuyendo así a la pérdida de control característica de la adicción. Durante la adicción, el valor incrementado de la droga en los circuitos de recompensa (núcleo accumbens y pálido ventral), motivacional (cortex orbitofrontal y cortex subcalloso) y de memoria (amígdala e hipocampo) superaría el control inhibitorio ejercido por el cortex prefrontal (específicamente, el cortex orbitofrontal y el cortex cingulado anterior) (Volkow *et al*, 2003); lo que se conoce como síndrome de la atribución de saliencia y alteración de la respuesta de inhibición (*Syndrome of Impaired Response Inhibition and Saliente Attribution I-RISA*).



Por un lado, la hiperactividad dopaminérgica subcortical, que provoca una amplificación del aprendizaje estímulo-recompensa y una potenciación de recompensas condicionadas, podría resultar en una mayor impulsividad en la búsqueda de drogas. El incremento de impulsividad tras el consumo repetido de cocaína conllevaría un mayor riesgo de recaída. A su vez, la función dopaminérgica cortical alterada tras consumo crónico de cocaína afectaría anómalamente el control inhibitorio ejercido por el sistema fronto-estriatal, que a su vez modula los comportamientos relacionados con recompensas. El sinergismo entre el incremento de las recompensas condicionadas y el decremento del control inhibitorio explicaría la conducta compulsiva de búsqueda de cocaína (Jentsch y Taylor, 1999).

## **CAPÍTULO 5**

---

## 5.- ESTÍMULOS CONDICIONADOS EN LA RECAÍDA A COCAÍNA

La adicción se compone de cuatro fases: iniciación, mantenimiento, abstinencia y recaída. El término recaída se refiere, en el contexto de la adicción, al regreso en la búsqueda y/o consumo de la droga tras un período prolongado de abstinencia.

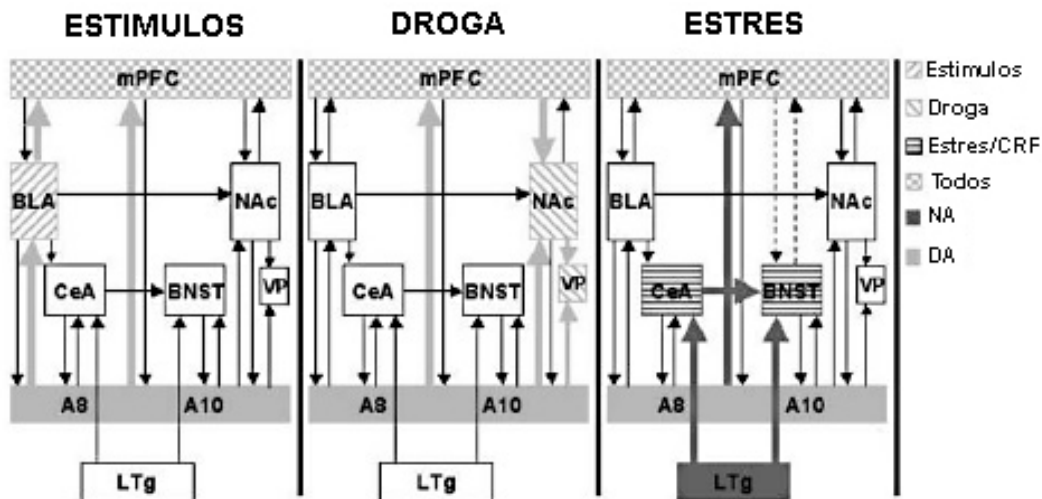
De Wit y Stewart (1981) han establecido un modelo de recaída en donde se pueden estudiar los factores involucrados en la conducta de búsqueda de diversas drogas de abuso. Básicamente son tres, (a) la presentación de la droga, (b) el estrés y (c) los estímulos condicionados a la droga. También, se han identificado las estructuras implicadas en los diferentes tipos de recaídas. Para el caso de la recaída (a) por estímulos condicionados tendríamos ejerciendo un papel fundamental a la amígdala basolateral; (b) por inyecciones de recuerdo (*priming*), al área tegmental ventral y; (c) por estrés, la inervación adrenérgica de la amígdala extendida. Estos tres modelos podrían converger en el cortex cingulado anterior y llegar finalmente por proyecciones glutamatergicas al *core* del núcleo accumbens (Kalivas y McFarland, 2003, Bossert *et al*, 2005).

McFarland y Kalivas (2001) muestran que la recaída inducida por cocaína depende del flujo de información secuencial entre el área tegmental ventral, el cortex prefrontal dorsal, el *core* del núcleo accumbens y el pálido ventral. De igual manera, la recaída inducida por estímulos condicionados dependería de un circuito similar, pero a través de un punto de entrada que involucrase la amígdala basolateral. Según Everitt *et al* (1999), el control de la conducta por estímulos condicionados a la droga se basa en la interacción de la amígdala basolateral y el sistema dopaminérgico mesolímbico.

Parece existir un solapamiento entre los estímulos previamente asociados a la droga y estrés, ya que ambos serían capaces activar el sistema dopaminérgico mesolímbico a través del cortex prefrontal, la amígdala y el eje del estrés (Self y Nestler, 1998) e incrementar los niveles de la hormona adrenocorticotropa o corticotropina y de cortisol (Sinha *et al*, 1999; Sinha *et al*, 2003). Emociones y condicionamientos se entrelazan en cuanto a que un aspecto central de la emoción implica la valoración y procesamiento de los estímulos medioambientales (Cardinal *et al*, 2002). También, los estados emocionales



negativos parecen jugar un papel relevante como desencadenantes de la recaída (Marlatt y Gordon, 1985; McKay *et al*, 1996). Por tanto, la interacción entre estrés y condicionamiento surge como uno de los factores más importantes en el proceso de recaída en adicción (See, 2005).



Esquema resumen de los sistemas cerebrales críticos en la recaída a cocaína. Las flechas grandes indican vías que podrían estar involucradas en la recaída; las delgadas, algunas de las conexiones anatómicas directas y las punteadas, conexiones indirectas. Agrupamientos de neuronas dopaminérgicas A8 y A10; BLA, amígdala basolateral; BNST, núcleo del lecho de la estría terminal; CeA, amígdala central; CRF, factor de liberación de corticotropina; LC, locus coeruleus; LTg, Agrupaciones de neuronas noradrenérgicas de núcleos del tegmento lateral; mPFC, cortex prefrontal medial; NAc, núcleo Accumbens; VP, pálido ventral (Shaham *et al*, 2003).

A continuación, nos centraremos en la recaída por estímulos condicionados, donde las asociaciones entre estímulos juegan un papel importante en el desarrollo de los síntomas del síndrome de abstinencia y la urgencia para la toma de drogas (West, 2006). Tanto en animales de experimentación como en humanos estos han demostrado una gran relevancia en la activación del deseo por la cocaína y su recaída (Childress *et al*, 1999).

Existen dos teorías en relación al condicionamiento secundario que tiene lugar durante el desarrollo de la adicción, quizás no totalmente opuestas (Ettenberg y Geist, 1991):

- Los estímulos condicionados desatan respuestas condicionadas anticipatorias de carácter opuesto a los efectos directos de la droga, similares a los síntomas del síndrome de abstinencia. De esta manera, la recaída se desencadenaría por el deseo a escapar de estados aversivos condicionados similares al síndrome de abstinencia (Siegel, 1979; MacRae *et al*, 1987). La teoría de Siegel no debería confundirse con la de Wikler (1973), que se refiere al síndrome de abstinencia condicionado durante la abstinencia a la droga.
- Los estímulos condicionados desatan respuestas del mismo carácter que los efectos eufóricos de la droga, incrementándose así la motivación para la toma de la droga. En este caso, la recaída se desencadenaría por la anticipación de los efectos placenteros producto de respuestas condicionadas, semejantes a la droga (Stewart *et al*, 1984).

A través de procesos de aprendizaje asociativo (Pavlov, 1927), estímulos anteriormente neutros adquieren propiedades incentivo-motivacionales por medio del repetido emparejamiento con la toma de la droga (Foltin y Haney, 2000). Ciertamente, su peso en la adicción es mayúsculo, ya que los estímulos previamente asociados a la cocaína subyacen a la conducta de búsqueda de la droga (Kruzich *et al*, 2001), se muestran altamente resistentes a la extinción (Weiss *et al*, 2001) y su efecto se potencia de manera temporal-dependiente por un mecanismo de incubación (Grimm *et al*, 2001). La sensibilización no ocurre tan sólo a los efectos de activación psicomotora sino también a los efectos motivacionales tras la abstinencia a la cocaína (Weiss *et al*, 2001). En consecuencia, la probabilidad a recaer podría verse incrementada según avanza el período de abstinencia (Grimm *et al*, 2001).

En humanos, cocainómanos abstinentes a la droga informan de un intenso deseo, activación fisiológica y síntomas del síndrome de abstinencia cuando son expuestos a

estímulos previamente asociados con el uso de cocaína (Childress *et al*, 1993). Con animales de experimentación, hasta el desarrollo de los modelos actuales de recaída, los estudios con programas de reforzamiento de segundo orden eran los que señalaban la importancia de los estímulos condicionados (Goldberg *et al*, 1975). Actualmente, se utilizan estímulos compuestos (por ejemplo una luz y un tono emparejados con las infusiones de cocaína durante la autoadministración) ya que son más efectivos durante la recaída que los estímulos aislados (See *et al*, 1999).

Los estímulos condicionados que se asocian con la droga pueden ser estímulos discretos que van emparejados con las infusiones de droga, estímulos discriminativos que actuarían como predictores de la disponibilidad de la droga y estímulos contextuales o de fondo (como el ventilador o la hora del día) (Shaham *et al*, 2003; Bossert *et al*, 2005).

Tanto estudios en humanos como en animales que han investigado los estímulos condicionados durante la recaída a cocaína señalan tres estructuras cerebrales esenciales: (a) el complejo amigdalino, (b) ciertas regiones del lóbulo frontal y (c) el núcleo accumbens (See, 2005; Rebec y Sun, 2005; Kalivas, 2007). La amígdala es una pieza clave en las asociaciones entre el reforzador (la droga) y los estímulos discriminativos, mientras que el cortex cingulado y orbitofrontal son críticos en la recaída provocada por estímulos condicionados que predicen la disponibilidad de la droga (See, 2002). La presentación no contingente de estímulos discriminativos que previamente indicaban la disponibilidad de la cocaína (más que la infusión de la misma) causan una recaída a cocaína tras largo tiempo de abstinencia, asociada con un incremento en la liberación de dopamina tanto en la amígdala como en el núcleo accumbens (Weiss *et al*, 2000). La presentación de estímulos contextuales, incluso después de cuatro meses de abstinencia, son capaces de incrementar la síntesis de c-Fos en el cortex cingulado anterior y la amígdala basolateral (Ciccocioppo *et al*, 2001). Otras estructuras cerebrales podrían jugar un papel más relevante en la respuesta a estímulos contextuales, entre las cuales cabe citar el hipocampo (Everitt y Wolf, 2002).

La transmisión dopaminérgica en la amígdala basolateral parece ser la señal primaria en iniciar la respuesta comportamental de recaída y la formación inicial de asociaciones entre estímulos y la droga, ya que la inhibición de los receptores D<sub>1</sub> de

dopamina en la amígdala basolateral inhibe la recaída inducida por estímulos condicionados, mientras que los antagonistas de glutamato ionotrópicos se muestran inefectivos (See *et al*, 2001). Si bien, interacciones con otros sistemas de neurotransmisión, como el sistema colinérgico, se espera sean críticas (See, 2005). La amígdala puede dividirse en dos áreas (Cardinal *et al*, 2002). Una compuesta por los núcleos basal y lateral, y otra formada por los núcleos central y medial. Los núcleos basal y lateral tienen un mayor grado de conexión directa con regiones neocorticales, mientras los núcleos central y medial tienen mayor número de conexiones con estructuras subcorticales. La amígdala basolateral parece estar más implicada en el proceso asociativo entre estímulos emparejados con el reforzamiento primario, mientras la amígdala central sería más importante en la atención controlada, incluyéndose la orientación a estímulos condicionados distales. Dentro de la amígdala basolateral, su parte rostral parece ser especialmente sensible en la recaída inducida por estímulos condicionados a la cocaína (Kantak *et al*, 2002). A diferencia de la amígdala, la cual presenta extensas conexiones con el núcleo accumbens, los cortex cingulado anterior y orbitofrontal tienen conexiones directas con ambas estructuras, amígdala y núcleo accumbens (Groenewegen, 1990).

Aunque la participación del cortex cingulado anterior y el cortex orbitofrontal es innegable en procesos de control inhibitorio y toma de decisiones, también estas mismas áreas cerebrales se vinculan con procesos de valoración de recompensas y asignación de valencia emocional a los estímulos medioambientales. De tal manera que, en la adicción a cocaína, al afectarse estas estructuras, pudiera perderse el control sobre el comportamiento y seguirse, en su lugar, tendencias pre-potentes a estímulos condicionados a la droga (Lubman *et al*, 2004)

Aunque los efectos reforzantes primarios de la cocaína podrían depender de la integridad del sistema dopaminérgico mesocorticolímbico que termina en el núcleo accumbens (Everitt y Wolf, 2002), la liberación de dopamina en el núcleo accumbens por estímulos condicionados es un tema aún controvertido, que posiblemente pueda depender del tipo de estimulación utilizada y de la diferenciación regional dentro del núcleo accumbens (Weiss *et al*, 2000; Ghitza *et al*, 2003; Fuchs *et al*, 2004). Ito *et al* (2004) proponen que el *shell* del núcleo accumbens está más implicado en las acciones psicoestimulantes de la cocaína mientras que el *core* es fundamental en las propiedades

reforzantes secundarias de los estímulos condicionados a la cocaína. Ciertamente, la parte central podría jugar un papel destacado en el reforzamiento secundario debido a sus conexiones con la parte rostral de la amígdala basolateral (Ito *et al*, 2000). Es por esta razón que los esfuerzos para implicar al sistema cannabinoide en los efectos de la cocaína sobre el núcleo accumbens puedan haber fracasado hasta ahora. Sería interesante estudiar su papel, especialmente en el *core* del núcleo accumbens; en la mediación de las influencias condicionadas en el comportamiento instrumental a la cocaína (Ito *et al*, 2004)

Ha sido postulado que la sensibilización en la liberación de dopamina en el núcleo accumbens incrementa el valor motivacional de estímulos asociados con la droga. De esta manera, el núcleo accumbens se perfila como un lugar primario en el reforzamiento de las drogas de abuso y en los procesos asociativos de estímulos condicionados emparejados con la droga. También, se han observado incrementos en la liberación de dopamina en el estriado dorsal, pero únicamente cuando la presentación de estímulos condicionados se realiza de manera contingente (Ito *et al*, 2002), indicando su implicación en la conducta de búsqueda de la droga (Vanderschuren *et al*, 2005).

Por otro lado, los *inputs* glutamatérgicos que el núcleo accumbens recibe del cortex prefrontal, amígdala, hipocampo y tálamo señalan lo intrincado del circuito (Berke y Hyman, 2000). De hecho, los antagonistas del receptor NMDA, inyectados sistémicamente, señalan un papel del glutamato en la recaída a estímulos condicionados discretos (Bespalov *et al*, 2000). Durante la presentación del estímulo condicionado, neuronas glutamatérgicas de la amígdala basolateral incrementan su actividad provocando una elevación de dopamina en el núcleo accumbens por medio de la activación de los receptores de glutamato presentes en los terminales axónicos dopaminérgicos (Katona *et al*, 2001).

Futuros estudios deberán tratar de dilucidar si los sustratos neurales de la recaída a estímulos condicionados en ratas dependen críticamente de si hay un proceso de extinción explícito o, simplemente un período de privación a la droga (Kalivas *et al*, 2006; Fuchs *et al*, 2006). De igual manera que la administración pasiva o activa de drogas es determinante en las neuroadaptaciones inducidas por drogas (Jacobs *et al*, 2003), el hecho de que la abstinencia sea elegida o impuesta (Epstein *et al*, 2006) podría ser a su vez un factor clave

en la reactividad del adicto a la presentación de estímulos condicionados a la droga (Wilson *et al*, 2004).

## **CAPÍTULO 6**

---

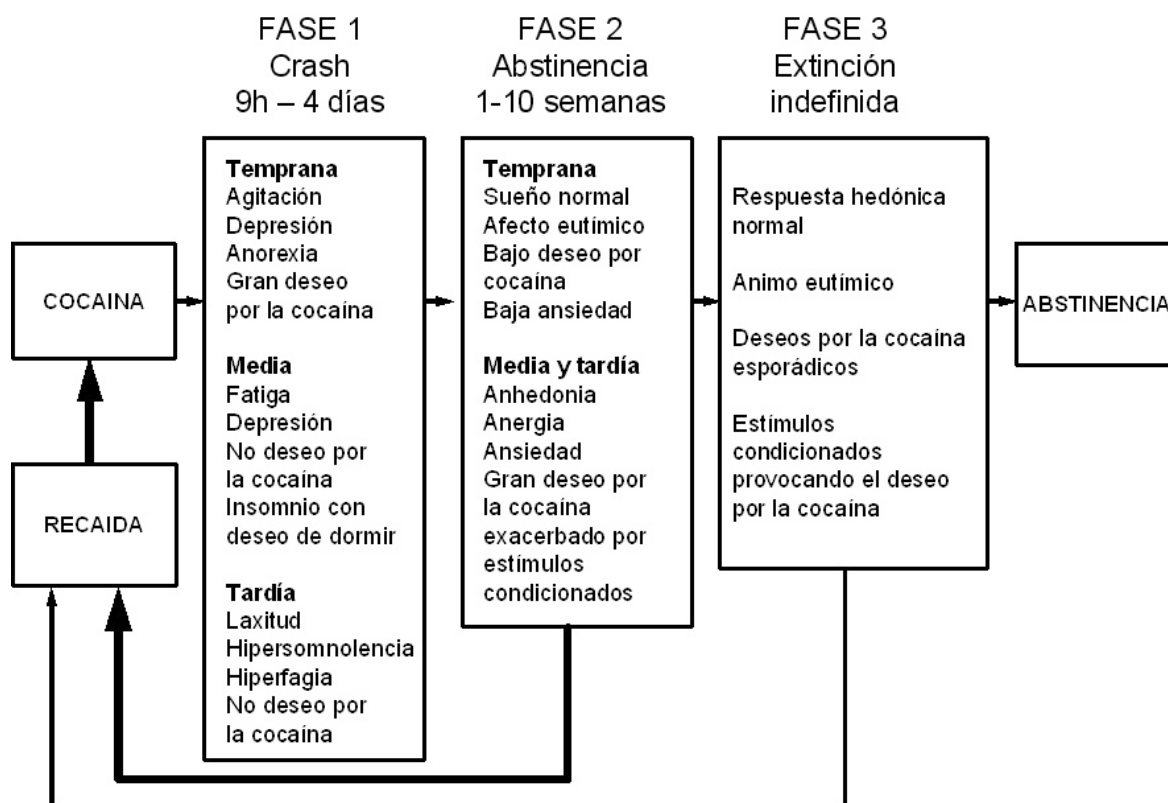
## 6.- ESTADOS EMOCIONALES NEGATIVOS EN ADICCIÓN

Aunque es reconocido que tanto estrés, ansiedad y depresión son diferentes expresiones emocionales, irremediablemente son conceptos entrelazados (Friedman *et al*, 1992). Tanto el estrés, como otros estados emocionales negativos, llevan a la adicción a individuos vulnerables y precipitan la recaída al interferir con la habilidad para inhibir respuestas y tomar decisiones (de Wit y Richards, 2004; Sinha, 2001). Factores importantes en la vulnerabilidad a la adicción a cocaína son elevadas reacciones a situaciones estresantes, incluido estrés psicológico y sobre-activación del eje del estrés (Ramsey y Van Ree, 1993; Piazza y Le Moal, 1998; Piazza *et al*, 1996; Kreek *et al*, 2005). Curiosamente, estrés es asociado con la liberación de dopamina en neuronas dopaminérgicas mesolímbicas, específicamente en el *shell* del núcleo accumbens, considerado el principal substrato de los efectos reforzantes de las drogas de abuso (Piazza y Le Moal, 1996).

Aunque en el caso de cocaína no existan signos explícitos de dependencia física durante su abstinencia, son varios los síntomas motivacionales de carácter negativo presentes, tales como disforia, depresión, ansiedad, anergia, insomnio y deseo por la droga (Gawin y Kleber, 1986). Se han identificado tres fases durante la abstinencia en cocainómanos (Gawin y Kleber, 1986; Gawin, 1991):

- 1) Fase de “bajada”. Tiene una duración de hasta 4 días y viene caracterizada, inicialmente, por un rápido decaimiento del ánimo y energía, un inicio agudo de depresión y un intenso deseo por cocaína. En cambio, durante las fases media y tardía, el deseo de cocaína desciende hasta ser prácticamente inexistente, predominando el abatimiento general. Si se superan las primeras horas de abstinencia, el riesgo de recaída durante esta primera fase es bajo.
- 2) Período de prolongada disforia, anhedonia y falta de motivación, y un incremento del deseo por la cocaína que puede llegar hasta las 10 semanas. La recaída es muy probable que tenga lugar durante esta fase. El poder de los estímulos condicionados es mayúsculo.
- 3) Caracterizada por deseos episódicos y de duración indefinida.





Patrón temporal de los estados emocionales en las diferentes fases de la abstinencia a cocaína y su implicación en la adicción (Gawin, 1991)

La psicopatología más frecuentemente asociada a los adictos a cocaína incluye anhedonia, ansiedad, anergia, paranoia, depresión y trastorno bipolar de la personalidad (Majewska, 1996). Cocaína, al igual que el estrés, estimula el eje hipotálamico hipofisiario (Calogero *et al*, 1989). Incluso, algunos individuos que consumen cocaína cesan su uso inmediatamente describiendo una abrumadora ansiedad que supera a la euforia (Gawin, 1991). Cocaína no sólo puede producir ansiedad y ataques de pánico en humanos sino también respuestas ansiogénicas en animales a través de sus efectos sobre la liberación de corticotrofina (Sarnyal *et al*, 2001; Goeders, 2002). El co-abuso de cannabis con cocaína, tan ampliamente extendido, podría deberse, en parte, a la disminución de la disforia asociada al consumo de cocaína por parte del cannabis (Foltin *et al*, 1993; Lukas *et al*, 1994).

### EFFECTOS DE LA MODULACIÓN DE LA TRANSMISIÓN ENDOCANNABINOIDE SOBRE ANSIEDAD MEDIDA EN EL LABERINTO ELEVADO EN CRUZ

TRATAMIENTO	ESPECIE	MEDIDA	EFFECTO	AUTORES
Rimonabant	Rata	Agudo	↑	Navarro et al (1997); Anevalio et al (2001)
	Ratón	Agudo	↑	Patel y Hillard (2006)
	Rata	Agudo	↔	Balerio et al (2006)
	Ratón	Agudo	↔	Takahashi et al (2005)
	Rata	Agudo	↓	Griebel et al (2005)
	Ratón	Agudo	↓	Haller et al (2002); Rodgers et al (2003)
AM251		Agudo	↑	Haller et al (2004a); Patel y Hillard (2006)
CB1 KO	Ratón		↑	Haller et al (2004ab); Uriguen et al (2004)
	Ratón		↔	Marsicano et al (2002); Houchi et al (2005)
AM404	Ratón	Agudo	↓	Haller et al (2004a); Patel y Hillard et al (2006)
	Rata	Agudo	↓	Bortolato et al (2006); Braida et al (2007)
URB597	Rata	Agudo	↓	Hill et al (2007)
	Ratón	Agudo	↓	Patel y Hillard (2006)
Oleamida	Rata	Agudo	↓	Fedorova et al (2001)
Anandamida	Ratón	Agudo	↑	Chakrabarti et al (1998)

Aunque no parece haber duda de que el sistema cannabinoide está implicado en el control emocional del comportamiento, en que dirección ocurren estos cambios es aún un tema controvertido. Por ejemplo, los estudios pre-clínicos sobre la ansiedad tras manipulación farmacológica del sistema cannabinoide muestran resultados contradictorios. Por limitaciones de espacio nos centraremos tan solo en la prueba comportamental para el estudio de la ansiedad conocida como laberinto elevado en cruz. En las tablas resumen podemos apreciar como la modulación tanto endógena como exógena del sistema cannabinoide provoca efectos tanto de tipo ansiolítico como ansiogénico. Estas contradicciones podrían explicarse sobre la base de variables como, la dosis empleada (dosis bajas ejerciendo, por lo general, ansiólisis y dosis altas, ansiogénesis), la historia previa del sujeto, tipo de tratamiento (agudo, crónico, en abstinencia), el contexto, los niveles basales previos de ansiedad, la especie y el modelo utilizado (Witkin *et al*, 2005a; Valverde, 2005; Viveros *et al*, 2005). Otros autores atribuyen estas discrepancias, al menos

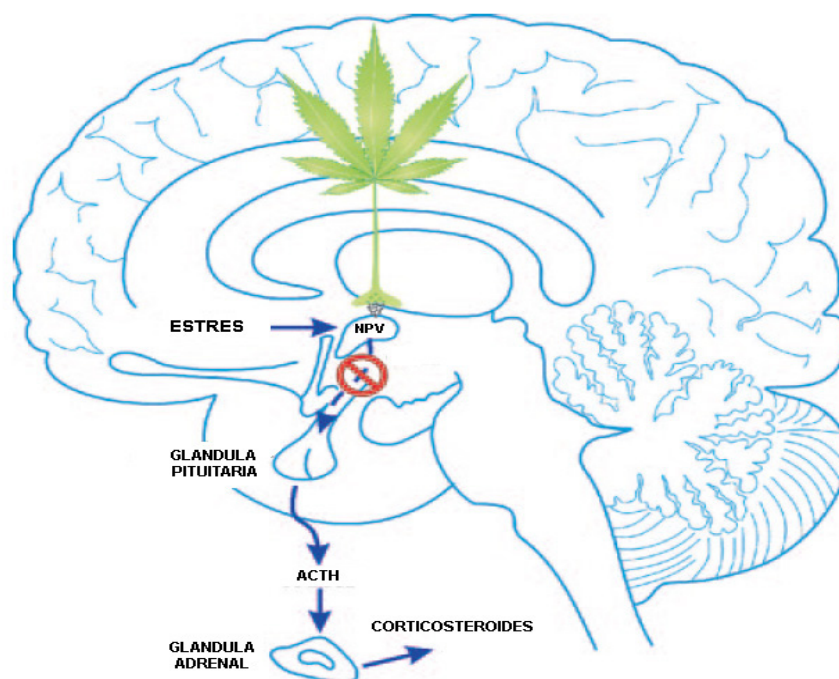
en parte, a la existencia de un tercer receptor cannabinoide (Breivogel *et al*, 2001; Haller *et al*, 2002).

### EFFECTOS DE LA MODULACIÓN EXÓGENA DEL SISTEMA CANNABINOIDE SOBRE ANSIEDAD MEDIDA EN EL LABERINTO ELEVADO EN CRUZ

TRATAMIENTO	ESPECIE	MEDIDA	EFFECTO	AUTORES
WIN 55,212-2	Rata	Crónico	↑	Page et al (2007)
	Ratón	Agudo	↑	Haller et al (2007)
	Rata	Agudo	↔	Pandolfo et al (2007)
	Rata	Abstinencia	↔	Page et al (2007)
	Ratón	Agudo	↓	Haller et al (2004a); Patel y Hillard et al (2006); Haller et al (2007)
HU-210	Rata	Agudo	↑	Hill y Gorzalka (2004)
	Rata	Crónico	↑	Giuliani et al (2000); Carbelotto et al (2004)
	Rata	Agudo	↔	Giuliani et al (2000)
	Rata	Crónico	↔	Carbelotto et al (2004); Hill y Gorzalka (2006)
	Rata	Agudo	↓	Hill y Gorzalka (2004)
CP 55,940	Rata	Agudo	↑	Arevalo et al (2001); Genn et al (2003); Marin et al (2003); Marco et al (2004); Marco et al (2006)
	Ratón	Agudo	↑	Patel y Hillard (2006)
	Rata	Agudo	↓	Genn et al (2003); Marco et al (2004)
	Rata	Periadeloscencia-adulthood	↓	Biscaia et al (2003)
Delta-9-THC	Rata	Agudo	↑	Onaivi et al (1990); Valjent et al (2002); Celerier et al (2006)
	Ratón	Agudo	↑	Onaivi et al (1990)
	Rata/ratón	Crónico	↑	Balerio et al (1990)
	Rata	Agudo	↔	Balerio et al (2006)
	Rata/ratón	Abstinencia	↔	Onaivi et al (1990)
	Rata	Agudo	↓	Valjent et al (2002); Celerier et al (2006); Rubino et al (2007); Braida et al (2007)
Extracto cannabis	Rata	Abstinencia	↔	Bhattacharya et al (1995)
Cannabidiol	Rata	Agudo	↓	Onaivi et al (1990); Guimaraes et al (1990)

El incremento de la transmisión endocannabinoide suprime (aunque la exógena parece incrementar en algunos casos) la activación del eje del estrés (Tasker, 2004; Patel *et al*, 2004) tras activación (por estimulación de corticosteroides) de los receptores CB<sub>1</sub> presinápticos del núcleo paraventricular del hipotálamo (Cota *et al*, 2007), que, a su vez, reduce la liberación de glutamato (Di *et al*, 2003). No solamente existe una alta densidad de receptores del factor liberador de corticotropina en el núcleo paraventricular del hipotálamo sino también en la amígdala basolateral (DeSouza *et al*, 1985), que conecta profusamente con el núcleo central de la amígdala (Otterson, 1982). Aunque no existen receptores CB<sub>1</sub> en el núcleo central de la amígdala, estos están altamente representados en la amígdala basolateral, específicamente en los terminales axónicos de una subpoblación

de interneuronas GABAérgicas, que a su vez co-expresan colescitoquinina (Katona *et al*, 2001), neuromodulador implicado en ansiedad (Harro *et al*, 1993). Sin embargo, los efectos de algunos agonistas cannabinoides (como WIN 55,212-2) en la amígdala basolateral pudieran estar mediados por un, aún por caracterizar farmacológicamente, tercer receptor cannabinoide (Pistis *et al*, 2004).



El incremento de la transmisión endocannabinoide suprime la activación del eje hipotálamo-hipofisiario ante estrés (Tasker, 2004)

Resultados experimentales señalan que un incremento de la transmisión endocannabinoide es capaz de reducir los efectos ansiogénicos de la cocaína (Hayase *et al*, 2005). Además, tanto en humanos como en animales, estímulos condicionados a la cocaína, al igual que el estrés, son capaces de activar el eje del estrés (DeVries y Pert, 1998; DeVries *et al*, 1998; Sinha *et al*, 2000; Goeders, 2002) provocando la recaída. El tratamiento con compuestos ansiolíticos (Goeders y Clampitt, 2002) o ansiogénicos (Feltenstein y See, 2006), reduce o potencia, respectivamente, la recaída inducida por estímulos condicionados a cocaína. Sin embargo, conocer en que medida estructuras hipotálamicas (DeVries *et al*, 1998) o extrahipotálamicas (DeVries y Pert, 1998) median estos efectos requiere de un mayor estudio. Curiosamente, el incremento de la transmisión endógena del sistema cannabinoide en la amígdala basolateral parece facilitar la extinción

de memorias aversivas en tareas de condicionamiento del miedo, considerado un modelo de ansiedad en humanos (Chhatwal y Ressler, 2007). Lo que señala su importancia en el tratamiento de alteraciones del estado de ánimo, como trastornos de estrés postraumático o fobias (Marsicano *et al*, 2002). Está misma estructura cerebral, como ya hemos visto anteriormente, está íntimamente ligada a la recaída a estímulos condicionados, y conecta directamente con el cortex cingulado anterior (Groenewegen *et al*, 1990), implicado tanto en la recaída a estímulos condicionados como en la modulación de estados emocionales (Wexler *et al*, 2001). Por tanto, parece razonable pensar que en función de sus efectos bifásicos sobre la modulación de la ansiedad, el sistema cannabinoide podría estar afectando la recaída a estímulos condicionados durante la abstinencia a cocaína.

## **CAPÍTULO 7**

---

## 7.- ADICCIÓN E IMPULSIVIDAD

El concepto de impulsividad es utilizado en el DSM-IV formando parte de diferentes trastornos psiquiátricos, aunque no es definido explícitamente en ningún apartado (DSM-IV, 1994). A nivel teórico, impulsividad podría definirse como la predisposición hacia reacciones rápidas y no planificadas a estímulos internos o externos, sin consideración de las consecuencias negativas hacia sí mismo o los demás (Moeller y Barrat, 2001). Como puede apreciarse, el término impulsividad recoge diferentes procesos psicológicos, tales como la incapacidad para demorar la gratificación, la incapacidad para frenar una respuesta pre-potente, actuar antes de que toda la información relevante sea proporcionada y la toma de decisiones inapropiada, arriesgada o mal concebida (Olmstead, 2006). Desde los diferentes campos de estudio, ya sean estos estudios con animales o humanos, se distinguen dos tipos de impulsividad: motora y cognitiva (Barrat y Patton, 1983; Lane *et al*, 2003; Arce y Santisteban, 2006). De las pruebas utilizadas en nuestros experimentos, pertenecen a la categoría de impulsividad cognitiva, la elección impulsiva; y a impulsividad motora, la señal de stop y la tarea de tiempo de reacción serial de elección cinco (*five choice serial reaction time task*, 5-CSRT) (ver apéndice).

Por un lado, la impulsividad cognitiva puede ser explicada por un déficit en atención, incapacidad para discriminar la magnitud de recompensas, alteraciones en la percepción temporal, problemas en la comprensión de las contingencias comportamentales, una incapacidad para considerar futuros eventos, una distorsión en el valor de las consecuencias a largo plazo, etc. Por otro lado, la impulsividad motora puede producirse por alteraciones en las capacidades sensoriales, motoras o temporales (Olmstead, 2006).

A su vez, impulsividad afecta diferentes tareas en función de los recursos cognitivos que se requieran. Por ejemplo, tareas que requieran al sujeto esperar y/o procesar grandes cantidades de información pueden verse alteradas por un incremento en la impulsividad. Contrariamente, en tareas cognitivas donde para el éxito se necesitan decisiones y respuestas rápidas, un incremento de impulsividad podría resultar beneficioso. Impulsividad puede ser un factor crítico cuando el tiempo de una respuesta es esencial para el éxito, en situaciones donde los animales tienen que inhibir su comportamiento o donde, por el contrario, tienen que actuar rápidamente (Bizot y Thiébot, 1996).

En el campo de la drogodependencia, impulsividad es un factor importante en las fases de iniciación, mantenimiento y recaída de la adicción (Moeller y Dougherty, 2002). Incluso, podría situarse en la base de la transición entre un uso de la droga casual y la propia dependencia; donde la droga es usada a pesar de sus evidentes consecuencias negativas (Bechara *et al*, 2001). Puede entenderse tanto como factor de riesgo o vulnerabilidad, como consecuencia del abuso de sustancias (Moeller y Dougherty, 2002, Yücel y Lubman, 2007). Por un lado, se conoce que trastornos infantiles (como el trastorno por déficit de atención e hiperactividad) caracterizados por impulsividad podrían conllevar una mayor vulnerabilidad para desarrollar adicción (Sullivan y Rudnik-Levin, 2001; Lynskey y Hall, 2001). Indirectamente, la adicción a drogas está en gran medida relacionada con trastornos psiquiátricos en donde la impulsividad está presente, como son el trastorno de personalidad antisocial y el trastorno bipolar I (Regier *et al*, 1990). Por otro lado, cocainómanos se muestran significativamente más impulsivos que controles; medido por la escala de impulsividad denominada BIS (*Barrat Impulsiveness Scale*) (Moeller *et al*, 2001).

Son dos los neurotransmisores que clásicamente se han asociado con impulsividad: serotonina y dopamina (Cardinal *et al*, 2004; Kalenscher *et al*, 2006). En cuanto al sistema dopaminérgico, se ha encontrado relación entre impulsividad y determinados polimorfismos de los genes que codifican los receptores D<sub>2</sub> (Limosin *et al*, 2003) y D<sub>4</sub> (Comings *et al*, 1999). Para el sistema serotoninérgico, se han hallado polimorfismos del gen promotor del transportador de serotonina (5-HTT) (Hallikainen *et al*, 1999) y del gen que codifica el receptor 5-HT<sub>2A</sub> (Preuss *et al*, 2001). Una función dopaminérgica alterada, sobre todo en receptores D<sub>2</sub>, parece incrementar la impulsividad cognitiva (van Gaalen *et al*, 2006b; Wade *et al*, 2000). Por otro lado, la supresión de la actividad serotoninérgica reduce la inhibición comportamental, haciendo a los animales más impulsivos a nivel motor (Cardinal *et al*, 2004). Una transmisión serotonérgica reducida resulta en un cambio desde la inhibición del comportamiento hacia su facilitación, un cambio que en humanos refleja el control impulsivo (Soubrié, 1986). Finalmente, es de esperar que sea la interacción entre ambos sistemas, el dopaminérgico y serotoninérgico, la que tenga un peso importante en consideración a las bases neuroquímicas de la impulsividad (Winstanley *et al*, 2005b).



Area cerebral	Señal de stop	Eleccion impulsiva	5-CSRT
Córtex prelámbico	?	↔	↔
Córtex infralámbico	?	↔	↑
Córtex cingulado anterior	?	↔	↑
Córtex orbitofrontal	?	↑	↑
Núcleo accumbens	↔	↓	↑
Estriado medial	↑	?	↑
Núcleo subtalámico	?	↓	↑

Tabla resumen de los efectos de lesiones en diferentes regiones cerebrales en varios test de impulsividad en ratas. ↔: ningún efecto; ↑: incremento de la impulsividad; ↓: decremento de la impulsividad; ?: efecto desconocido. Abreviaturas: 5-CSRT (*Five Choice Serial Reaction Time*: Tiempo de reacción serial de elección 5) (Modificado de Winstaleley *et al*, 2006)

Varias estructuras cerebrales parecen jugar un papel crítico en la mediación de diferentes aspectos de la impulsividad cognitiva, como son el cortex orbitofrontal (Bechara *et al*, 2000), el *core* del núcleo accumbens (Cardinal *et al*, 2001) y la amígdala basolateral (Bechara *et al*, 1999). Pacientes con daño al lóbulo frontal a menudo muestran impulsividad dependiente en un alto grado de estímulos ambientales (Luria, 1980; Fillmore, 2003). En estudios con animales de experimentación, mientras que lesiones del *core* del núcleo accumbens y de la amígdala basolateral (pero no del cortex prefrontal medial o del cortex cingulado anterior) incrementan la impulsividad cognitiva, lesiones del cortex orbitofrontal y del núcleo subtalámico disminuyen la elección impulsiva (Cardinal *et al*, 2001; Winstanley, 2004 y 2005a; Uslaner y Robinson, 2006). Para el caso de la impulsividad motora, no se han observado cambios substanciales tras lesión del cortex prefrontal medial (cortex infralámbico), del *core* del núcleo accumbens o del núcleo subtalámico (Eagle y Robbins, 2003b; Eagle *et al*, 2007), aunque si un incremento de impulsividad al lesionar el estriado medial (caudado-putatmen) (Eagle y Robbins, 2003a) en la tarea de la señal de stop. Por su parte, en la tarea de tiempo de reacción de elección cinco se ha observado un incremento en el número de respuestas prematuras tras lesión del

cortex cingulado anterior (Muir *et al*, 1996), del cortex orbitofrontal (Chudasama *et al*, 2003), del *core* del núcleo accumbens (Christakou *et al*, 2004) y del núcleo subtalámico (Baunez y Robbins, 1997).

### 7.1.- CANNABINOIDES E IMPULSIVIDAD

El consumo de cannabis podría estar asociado con un incremento de impulsividad (Simons y Carey, 2002; Vangness *et al*, 2005). En experimentos de laboratorio con humanos, se ha estudiado el efecto agudo de delta-9-THC en varias tareas de impulsividad. Por un lado, impulsividad cognitiva, es decir, elección impulsiva; y por otro lado, impulsividad motora, como son: señal de stop, tarea *go/no go*, además de una tarea de estimación temporal. Delta-9-THC tan solo produjo alteraciones en la tarea de la señal de stop y en estimación temporal (aumentando la estimación de la duración de intervalos cortos pero no largos) (McDonald *et al*, 2003, Quednow *et al*, 2007). Alteraciones en la tarea de la señal de stop también han sido encontradas recientemente por otros grupos (Ramaekers *et al*, 2006a, Ramaekers *et al*, 2006b). Finalmente, en la tarea de juego patológico (*gambling task*), tratamiento con delta-9-THC (Lamers *et al*, 2006) o cannabis (Whitlow *et al*, 2004; pero no: Quednow *et al*, 2007) indica una alteración en la toma de decisiones (Lamers *et al*, 2006).

En el síndrome de atención por impulsividad existe una alteración de la percepción temporal con una valoración subjetiva temporal incrementada, donde se sobre-estiman y se reproducen antes los intervalos temporales (Barkley *et al*, 2001; Crystal *et al*, 2003). Lo que sugiere que el comportamiento impulsivo podría surgir de la deficiencia en el control temporal de la conducta (Barrat y Patton, 1983; van den Broek *et al*, 1992; Ho *et al*, 1998). Parece ser que ratas tratadas con agonistas cannabinoides (WIN 55,212-2 y delta-9-THC) sub-estiman la percepción temporal mientras que aquellas tratadas con antagonistas del sistema cannabinoide (SR 141716A) la sobre-estiman (Han y Robinson, 2001). Sin embargo, en humanos, tanto marihuana como su principal ingrediente activo, delta-9-THC, son capaces de incrementar la estimación temporal (Han y Robinson, 2001; Crystal *et al*, 2003).

En trastornos impulsivos, el uso de cannabinoides parece prometedor para arrojar luz sobre un futuro tratamiento. Por ejemplo, ratas impulsivas (en la tarea de elección impulsiva) y al mismo tiempo, adolescentes y espontáneamente hipertensivas (modelo animal del síndrome de atención por impulsividad), presentan una reducción de la densidad del receptor cannabinoide CB<sub>1</sub> en el cortex prefrontal. La administración aguda del agonista cannabinoide WIN 55,212-2 incrementa los niveles de auto-control en este grupo de animales (Adriani y Laviola, 2004). En esta misma línea, un inhibidor de la recaptación de anandamida, AM-404, es capaz de reducir la hiperactividad de este tipo de ratas (Beltramo *et al*, 2000). Curiosamente, recientemente se ha ligado al gen del receptor cannabinoide (CNR1) con el trastorno por déficit de atención e hiperactividad (Ponce *et al*, 2003)

El tratamiento con delta-9-THC durante el período prenatal en humanos conlleva un aumento posterior de impulsividad (Smith *et al*, 2004). Igualmente, el estrés parece jugar un papel importante en el desarrollo de la impulsividad, ya que una experiencia adversa temprana en la infancia lleva al posterior desarrollo de impulsividad (Olmstead, 2006). Ratas adolescentes que sufrieron privación maternal temprana presentan niveles elevados de impulsividad cognitiva (medida en la tarea de elección impulsiva) que son reducidos por tratamiento crónico con el cannabinoide URB597 (únicamente a dosis bajas), que por su acción bloqueante de la enzima FAAH, eleva los niveles del endocannabinoide endógeno AEA. Sin embargo, esta reducción en los niveles de impulsividad no se produce con dosis altas de URB597 o en animales control (Marco *et al*, 2006). Nuevos estudios son necesarios para entender como estados emocionales negativos e impulsividad se entrecruzan a nivel neurocomportamental.

En cuanto al bloqueo del sistema cannabinoide a través de antagonistas, prácticamente no hay estudios. Tan sólo un experimento en donde SR 141716 fue capaz de incrementar el número de elecciones hacia recompensas mayores pero demoradas en la prueba *T-maze* (Chaperon y Thiebot, 1999), es decir, de reducir la elección impulsiva.

## 7.2.- IMPULSIVIDAD Y COCAÍNA

Son dos los estudios que hasta ahora destacan en considerar el rasgo de impulsividad (tanto cognitiva como motora) como determinante de la adicción a cocaína. Un tipo de impulsividad cognitiva, recompensa demorada, parece predecir la posterior autoadministración intravenosa de cocaína en ratas hembra (Perry *et al*, 2005), hecho que podría corroborarse igualmente para el caso de las mujeres y la adicción a cocaína (Lejuez *et al*, 2007). Otro tipo de impulsividad motora, respuestas prematuras en la tarea conocida como tiempo de reacción serial de elección cinco, también predice el mantenimiento y escalada en autoadministración intravenosa (Dalley *et al*, 2007). El incremento de la impulsividad y su asociación con una menor disponibilidad del receptor D<sub>2/3</sub> (no por mayor liberación de dopamina sino probablemente por una disminución de receptores) en el núcleo accumbens (aunque no en el estriado dorsal o el cortex prefrontal medial) se presenta como un factor de vulnerabilidad a la adicción a cocaína (Dalley *et al*, 2007).

En cocainómanos, la administración aguda de cocaína muestra tanto efectos negativos (Fillmore y Rush, 2002; Fillmore *et al*, 2002) como positivos (Fillmore *et al*, 2006; Fillmore *et al*, 2005) sobre tareas de impulsividad motora. Es importante, de esta manera, tener en cuenta los efectos a largo de las diferentes fases de la adicción a cocaína cuando los sujetos reciben tratamiento agudo con el psicoestimulante (Fillmore, 2003). Por otro lado, cocainómanos, incluidos abstinentes, muestran mayor impulsividad cognitiva (Heil *et al*, 2006) y motora (Bolla *et al*, 2000; Verdejo-Garcia *et al*, 2007) en comparación con controles. El propio consumo continuado de cocaína, acentúa el rasgo de impulsividad y a través de este mecanismo intermedio podría favorecer el mantenimiento en la dependencia y dificultar el cese del consumo. Podría existir un cierto grado de reversibilidad, ya que cocainómanos abstinentes podrían presentar niveles de impulsividad más bajos que los consumidores (Forcada Chapa *et al*, 2006).

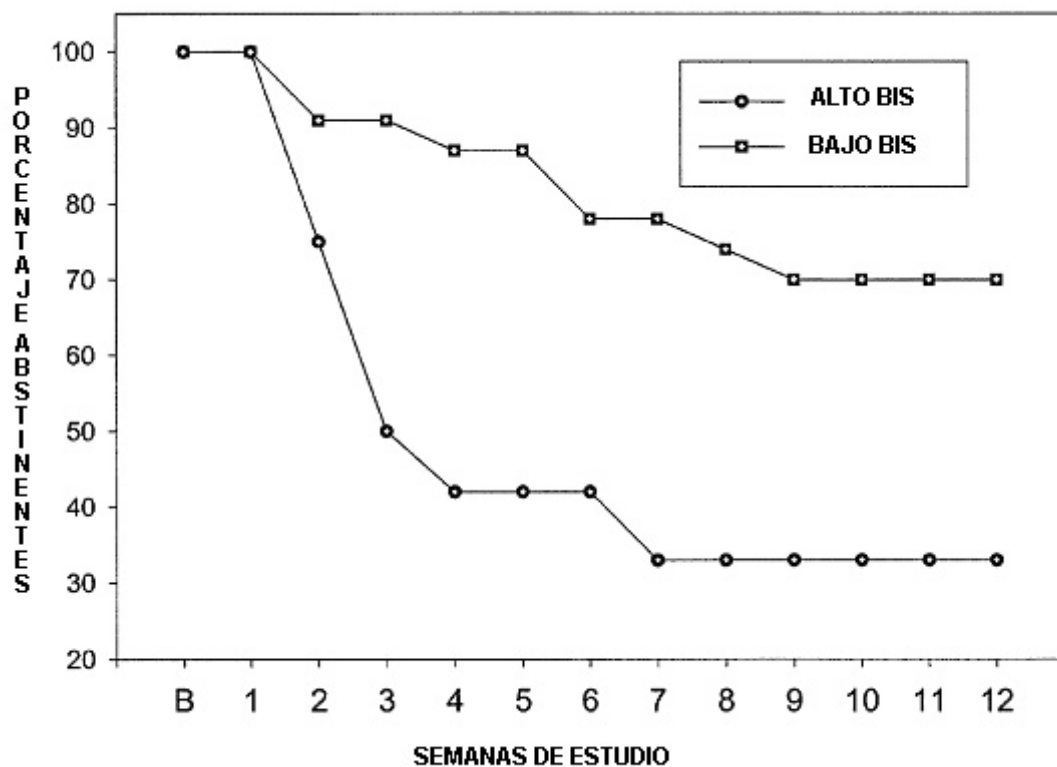
En estudios con animales de experimentación, mientras la administración aguda de cocaína incrementa el tipo de impulsividad motora (Paine y Olmstead, 2003), su administración crónica podría no alterar, en términos generales, ni impulsividad de tipo cognitiva ni motora (Paine *et al*, 2003; Dalley *et al*, 2005; Dalley *et al*, 2007). En tratamiento agudo, cocaína incrementa las respuestas prematuras en la tarea de tiempo de

reacción serial de elección cinco (van Gaalen *et al*, 2006a) y disminuye los tiempos entre respuestas (*interresponse time*) en *differential-reinforcement-of-low-rates schedules* (Woolverton *et al*, 1978; Wenger y Wright, 1990). Por otro lado, cuando es administrada subcrónicamente disminuye el autocontrol o incrementa la impulsividad cognitiva (Logue *et al*, 1992) o cuando es administrada crónicamente incrementa transitoriamente la impulsividad motora, aunque se recupere posteriormente (Paine *et al*, 2003).

Estudios con otro psicoestimulante, anfetamina, han encontrado una mejora de la impulsividad motora (tarea de la señal de stop) en adultos sanos (de Wit *et al*, 2002, de Wit *et al*, 2000) o en animales (Feola *et al*, 2000), si bien este efecto se refiere a sujetos con una línea basal de inhibición de respuesta baja. Sin embargo, se observa un incremento en el número de respuestas prematuras tras tratamiento con anfetamina (Cole y Robbins, 1987). Curiosamente, en la prueba de elección impulsiva la anfetamina disminuye la impulsividad cuando no hay ningún estímulo señalando la demora en la duración de la recompensa mayor, pero la incrementa cuando está presente este estímulo (Winstanley *et al*, 2005a; Cardinal *et al*, 2000). Una posible explicación para estos resultados podría ser que el tratamiento agudo con psicoestimulantes pudiera alterar el proceso de toma de decisiones de tal manera que los estímulos más salientes del medio ambiente cobrarán mayor relevancia (Steele y Josephs, 1990).

Estudios de neuroimagen con PET y SPECT en cocainómanos de larga duración revelan una baja actividad metabólica en el cortex frontal (Ernst y London, 1997), incluso apreciable durante la abstinencia (Volkow *et al*, 1991). Es sugerido que la activación dopaminérgica repetida del cortex prefrontal por uso continuado de cocaína consigue alterar las funciones inhibitorias (Jentsch y Taylor, 1999; Lyvers, 2000; Volkow *et al*, 1996), reforzando así la idea de que el consumo crónico de cocaína lleva asociado un incremento de la impulsividad. La deficiencia observada en dopamina en el déficit de atención e hiperactividad y en adictos crónicos podría tener una base biológica común, y quizás podría explicar el alto porcentaje de adictos a cocaína diagnosticados con déficit de atención e hiperactividad (Khantzian, 1985), los cuales pudieran estar auto-medicándose en relación con la disminución de dopamina (Majewaka, 1996). Por otro lado, mientras la disminución del tono serotoninérgico se asocia con impulsividad, la administración repetida de cocaína conlleva un decremento en el tono serotoninérgico cerebral (Hamon, 2002).

Finalmente, muy importantes desde el punto de vista de un posible tratamiento para la adicción a cocaína son los estudios que señalan el rasgo de impulsividad como factor predictor de la retención en el tratamiento a cocaína durante la abstinencia. Es decir, aquellos individuos cocainómanos con mayores puntuaciones en un test de impulsividad (*Barrat Impulsivity Scale*, BIS) tienen mayor probabilidad de abandonar el tratamiento en abstinencia y de permanecer menor tiempo en esta (Moeller *et al*, 2001; Patkar *et al*, 2004; Poling *et al*, 2007).



Aquellos cocainómanos con un rasgo de impulsividad elevado tienen mayor probabilidad de recaer que aquellos con un rasgo de impulsividad bajo (Moeller *et al*, 2001).

## **CAPÍTULO 8**

---

## 8.- ARTÍCULOS

### 8.1.- ARTÍCULO 1

**Autores:** González-Cuevas G, Aujla H, Martin-Fardon R, López-Moreno JA, Navarro M, Weiss F

**Año:** 2007

**Título:** Subchronic cannabinoid agonist (WIN 55,212-2) treatment during cocaine abstinence alters subsequent cocaine seeking behavior

**Revista:** *Neuropsychopharmacology*

**Volumen:** 32

**Páginas:** 2260-2266

### 8.1.- ARTÍCULO 2

**Autores:** Pattij T, Janssen MC, Schepers I, González-Cuevas G, de Vries TJ, Schoffelmeer AN

**Año:** 2007

**Título:** Effects of the cannabinoid CB(1) receptor antagonist rimonabant on distinct measures of impulsive behavior in rats

**Revista:** *Psychopharmacology*

**Volumen:** 193

**Páginas:** 85-96



## 8.1.- ARTÍCULO 1

### **Subchronic Cannabinoid Agonist (WIN 55,212-2) Treatment During Cocaine Abstinence Alters Subsequent Cocaine Seeking Behavior**

**Gustavo González-Cuevas<sup>\*,1</sup>, Harinder Aujla<sup>2</sup>, Rémi Martin-Fardon<sup>2</sup>, José Antonio López-Moreno<sup>1</sup>, Miguel Navarro<sup>1,3</sup>, Friedbert Weiss<sup>2,3</sup>**

<sup>1</sup>Laboratorio de Psicobiología. Universidad Complutense de Madrid. Madrid (Spain)

<sup>2</sup>Molecular and Integrative Neurosciences Department (MIND). The Scripps Research Institute. La Jolla, California (USA);

\*Correspondence: Gustavo González-Cuevas, Laboratorio de Psicobiología. Facultad de Psicología. Universidad Complutense de Madrid. Campus de Somosaguas S/N, E-28223, Pozuelo de Alarcón (Madrid), Spain, Tel: +34 913943093; Fax: +34 913943189; E-mail: [gugocu@psi.ucm.es](mailto:gugocu@psi.ucm.es)

<sup>3</sup>Both authors contributed equally to this work.

**ABSTRACT**

The co-abuse of marijuana with cocaine is wide-spread, but it has not been until recently that the relationship between the behavioral effects of cannabinoids and cocaine has begun to be unveiled in animal models. Male Wistar rats were trained to intravenously self-administer cocaine until a stable baseline was reached. Rats then were subjected to a 5-day cocaine deprivation period during which they were treated daily with the cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2 (R-(+)-[2,3-dihydro-5-methyl-3-(4-morpholinylmethyl)pyrrolo[1,2,3-de]-1,4-benzoxazin-6-yl]-1-naphthalenylmethanone mesylate) (0, 0.3, 1 and 3 mg/kg; i.p.). Following this subchronic treatment, rats were tested, in counterbalanced order, in a test of anxiety (elevated plus-maze), as well as extinction and cue-induced reinstatement tests, the latter conducted according to a between-within procedure. Subchronic administration of WIN 55,212-2 was found to produce dose-dependent alterations of performance in the extinction, reinstatement, and anxiety tests with the lowest dose of WIN 55,212-2 producing the highest resistance to extinction and reinstatement, and the highest dose of WIN 55,212-2 producing the highest anxiolytic activity. Subchronic treatment with WIN 55,212-2 in rats without a history of cocaine self-administration did not affect anxiety levels. The results suggest an important role of the cannabinoid system in neuronal processes underlying cocaine seeking behavior. However, further studies will be necessary to understand possible implications of these findings for a role of the cannabinoid system as a treatment target for human cocaine abuse.

**Keywords:** cocaine, cannabinoids, WIN 55,212-2, extinction, reinstatement, anxiety.

## INTRODUCTION

Cannabis represents the most widely used illicit drug and its co-abuse with cocaine has been identified as highly popular among drug users. It is thought that cannabis not only potentiates the positive effects of cocaine (by increasing its duration), but also diminishes the dysphoria associated with cocaine's unpleasant effects, particularly those experienced during the cocaine "crash" syndrome (Lukas *et al*, 1994). Indeed, it is known that cannabis-induced vasodilation of the nasal mucosa attenuates the vasoconstrictive effects of cocaine increasing its absorption (Foltin *et al*, 1993). At the same time, cocaine produces a number of negative symptoms including anxiety, depression, anergia, insomnia, drug craving and dysphoria (Koob and Le Moal, 2006), conditions that may be ameliorated by cannabis.

The endocannabinoid system, which mediates the effects of exogenous cannabinoids, plays an important role in multiple physiological and behavioral processes (Freund *et al*, 2003; Marx, 2006), including the regulation of emotional states (Witkin *et al*, 2005) such as anxiety (Navarro *et al*, 1997), the mediation of the reinforcing effects of depressants (*i.e.* heroin, morphine and alcohol) and nicotine (Maldonado *et al*, 2006) and the modulation of drug-seeking in animal models of relapse (Lopez-Moreno *et al*, 2004; De Vries and Schoffelmeer, 2005).

The role of the endocannabinoid system in the neurobehavioral effects of cocaine appears to be different compared to its role on other drugs of abuse such as depressants and nicotine (Gonzalez *et al*, 2002a; Gonzalez *et al*, 2002b; Maldonado *et al*, 2006). Studies utilizing pharmacological antagonism of CB<sub>1</sub> receptors or CB<sub>1</sub> deletion in knockout mice have failed to implicate endogenous cannabinoids in either the primary reinforcing actions of cocaine or cocaine-induced behavioral sensitization (Arnold *et al*, 1998; Ferrari *et al*, 1999; Martin *et al*, 2000; Cossu *et al*, 2001; Lesscher *et al*, 2004; Soria *et al*, 2005). However, a CB<sub>1</sub> cannabinoid receptor agonist, WIN 55,212-2, has been shown to decrease intravenous cocaine self-administration in rats at low doses (Fattore *et al*, 1999). Furthermore, WIN 55,212-2 is self-administered by mice at low doses (Martellota *et al*, 1998). According to the unit dose-response model (Caine *et al*, 1993), low doses of WIN 55,212-2 may decrease cocaine self-

administration in a manner similar to increasing the unit dose of cocaine. While the role of the endocannabinoid system in the acute reinforcing effects remains unclear, there is growing evidence for a participation of CB<sub>1</sub> receptor in the motivation to cocaine-seeking in a progressive ratio schedule (Soria *et al*, 2005) and in the reinstatement of cocaine-seeking by exposure to cocaine-associated environmental stimuli or cocaine itself (De Vries and Schoffelmeer, 2005; Arnold, 2005). While the potent cannabinoid receptor agonist HU-210 produced reinstatement of cocaine-seeking following long-term extinction, blockade of CB<sub>1</sub> receptors by the antagonist SR141716A attenuated reinstatement induced by cocaine cues or cocaine priming, but not reinstatement induced by stress (De Vries *et al*, 2001).

Cocaine is not only euphorogenic, but also can produce anxiety in humans and anxiety-like behavioral effects in animals (Blanchard and Blanchard, 1999; Ettenberg, 2004) following both acute and chronic administration (Yang *et al*, 1992) as well as during cocaine withdrawal (Wood and Lal, 1987). In addition, cocaine-associated cues were shown to produce anxiety-like behavior in rats after systemic administration of cocaine (DeVries and Pert, 1998). Similarly, increases in subjective anxiety and negative affect were recently observed in association with stress-induced and drug cue-induced craving in cocaine addicts (Sinha *et al*, 2000; Sinha *et al*, 2003). Interestingly, activation of CB<sub>1</sub> receptors seems to attenuate the anxiogenic or stressful aspects of cocaine's actions. For example, anxiogenic effects associated with either single or repeated doses of cocaine in mice were attenuated by the CB<sub>1</sub> agonists, CP 55940, anandamide, 2-arachidonylglycerol, N-arachidonyldopamine, and noladin ether (Hayase *et al*, 2005). Moreover, recent cannabis use has been found to decrease stress-induced blood oxygen level-dependent (BOLD) signals in the frontal and cingulate cortices of cocaine dependent individuals (Li *et al*, 2005). Although it is well-documented that acute administration of CB<sub>1</sub> agonists, at low doses, may induce anxiolysis, whereas higher doses result in anxiety-like behavior (Navarro *et al*, 1997; Valverde, 2005; Viveros *et al*, 2005), the direction in which emotional responses are modulated by repeated or chronic administration of cannabinoid agonists still remains to be elucidated.

The purpose of this study was to investigate the effects of subchronic treatment with the cannabinoid agonist WIN 55,212-2 - conducted during abstinence from daily cocaine self-

administration in rats - on subsequent motivational measures of cocaine-seeking, including resistance to extinction and conditioned reinstatement, as well as anxiety-like behavior in the elevated plus-maze. It was hypothesized that subchronic treatment with the cannabinoid agonist WIN 55,212-2 will alter cocaine seeking behaviour in extinction and conditioned reinstatement tests and that the direction of changes in cocaine-seeking behavior will be linked to the direction of changes in anxiety-like behaviour as measured on the elevated plus-maze.

## MATERIAL AND METHODS

### Animals

Male Wistar rats (Charles River) weighing 200-250g at the beginning of the experiments were housed in groups of three on a 12 hour reverse light/dark cycle (lights off at 8:00 a.m.). Experimental sessions were carried out during the dark phase of the day/night cycle. All procedures were conducted in strict adherence to the *National Institutes of Health Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*.

### Drugs

Cocaine hydrochloride (National Institute on Drug Abuse, Bethesda, MD) was dissolved in physiological saline. WIN 55,212-2 (Sigma) was dissolved in a solution consisting of ethanol, emulphor, and saline in a 1:1:18 ratio and injected i.p. at a volume of 1 ml/kg.

### Surgery

Rats were anesthetized with isoflurane (1.0-1.5%), prepared surgically with chronic silastic catheters in the right jugular vein as described previously (Caine *et al*, 1993) and allowed at least 5 days to recover. Catheter patency was maintained by flushing with 0.1 ml of sterile heparine/saline (33.3 USP U/ml) solution before and after each self-administration session. Catheter patency was tested whenever responses differed from the baseline, by infusing 0.1 ml of Brevital<sup>®</sup> sodium through the catheter. Animals with intact catheters showed a rapid loss of muscle tone within 3s after the infusion. Animals not showing this response (*i.e.*, with compromised catheters) were removed from the experiment.

### Apparatus

*Self-administration apparatus.* Rats were trained and tested in standard operant conditioning chambers located inside ventilated sound attenuating cubicles (BRS/LVE Inc., Laurel, MD).

The chambers were equipped with two retractable levers, a white cue light above each lever, and a house light located at the top of the chamber's front panel. The chambers were equipped also with a 80 ohm speaker located in the center of the chamber's front panel below the house light for presentation of a white noise (70 db) stimulus. Intravenous infusions were administered by a syringe pump (Razel Scientific Instruments, Stamford, CT) located outside the sound attenuating boxes. Testing equipment and data collection were controlled by an IBM-compatible microcomputer.

*Elevated plus maze apparatus.* The elevated plus maze apparatus consisted of four arms (50 cm long X 10 cm wide). The two enclosed arms had 40 cm high dark walls, whereas the two open arms had 0.5 cm high ledges. Lighting on the open arm was 1.5-2.0 lux. The maze was elevated to a height of 50 cm. White noise (70 dB) was present throughout habituation and testing.

## **Procedures**

*Operant Self-administration.* Rats were food restricted (for 24 hr the first day and from the second day on, fed 15g of standard rodent chow per day) and trained on a fixed-ratio (FR) schedule of food reinforcement. Responding on an FR1 schedule resulted in delivery of one food pellet (45mg, Research Diets). Once rats had earned 100 pellets, they were returned to ad libitum feeding and catheters were implanted. Following post-operative recovery, rats were allowed to self-administer cocaine on the right lever at a dose of 0.25 mg/infusion (delivered at a volume of 0.1 ml infused over 4 s) under a FR1 schedule for two hours on the right lever. Each reinforced response was followed by a compound stimulus, consisting of illumination of the white cue light above the right lever for 20 sec and presentation of white noise for 5 sec. In order to avoid accidental overdosing the lever remained inactive for 20 sec following every infusion. Responses at the inactive lever were recorded but had no programmed consequences.

Self-administration sessions continued until animals reached an acquisition criterion ( $\pm 10\%$  of mean active lever presses over three consecutive sessions). Once rats developed stable cocaine intake, daily self-administration sessions were discontinued (*i.e.*, rats were

cocaine deprived) and the animals were treated with the cannabinoid agonist WIN 55,212-2 (veh, 0.3, 1 and 3 mg/kg; i.p.; n = 7-8 per group) for 5 d. Following this subchronic treatment, rats were tested in extinction/reinstatement tests and a test of anxiety-like behavior (*i.e.*, the elevated plus-maze). The extinction/reinstatement tests and elevated plus-maze tests were conducted in counterbalanced order on days 6 and 7 of cocaine deprivation.

*Extinction and cue-induced reinstatement procedures.* Cocaine seeking behavior was evaluated according to a between-within reinstatement procedure (for review, see Shaham *et al*, 2003). Thus, the extinction and cue-induced reinstatement tests were conducted on the same day. During the extinction period, responses at the previously active lever had no scheduled consequences. Immediately following completion of 2h of extinction testing, 2h conditioned reinstatement tests began under contingencies identical to those in effect during the self-administration phase except that lever presses did not result in cocaine delivery.

*Elevated plus-maze procedure.* Two separate groups of rats, having received the same subchronic treatment with WIN 55,212-2 were tested. One group, the same rats as above, was tested following cocaine self-administration and WIN 55,212-2 treatment during abstinence. Rats in the other group were not subjected to cocaine self-administration and served as cocaine-naïve controls. Rats were placed individually onto the center of the apparatus facing one of the open arms. Plus-maze behavior was recorded by video camera interfaced with a monitor and a VCR in an adjacent room. Percent time spent in the open arms / (% time in open arms + % time in the closed arms) and number of entries into the closed arm were analysed. In addition, the number of closed arm entries was evaluated to provide a measure of locomotor activity (Cruz *et al*, 1994).

### **Statistical Analysis**

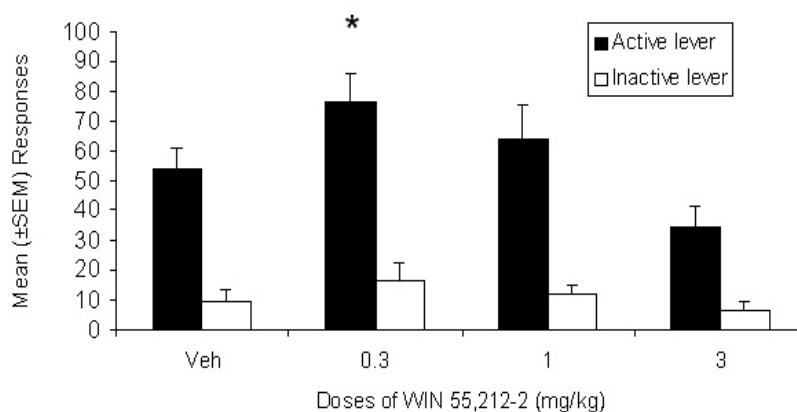
The data are presented as mean  $\pm$  SEM. Extinction, reinstatement, and elevated plus maze data were separately analysed by one-way between subjects analysis of variance (ANOVA). After confirmation of significant main effects by ANOVA ( $p < 0.05$ ), Tukey HSD *post hoc* tests were employed to verify significant differences among individual groups.



## RESULTS

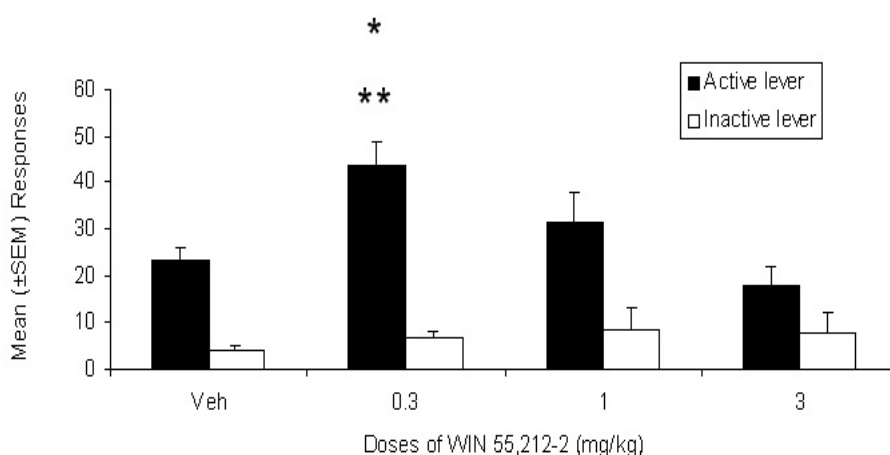
### Extinction and Cue-Induced Reinstatement Tests

A main effect of treatment was observed in responding at the active lever between the different groups during extinction ( $F_{3,28} = 3.53$ ;  $p < 0.05$ ). The effect of subchronic WIN 55,212-2 was dose-dependent, with the lowest dose producing the highest responding at the previously active lever during extinction. Subsequent Tukey HSD *post hoc* test revealed significant differences in responding at the active lever ( $p < 0.05$ ) between the lowest (0.3 mg/kg) and the highest dose (3 mg/kg) of subchronic WIN 55,212-2 but there was no significant difference in responding between rats subchronically treated with WIN 55,212-2 and vehicle controls. Responding at the inactive lever was negligible and not altered ( $F_{3,28} = 1.19$ ;  $p = 0.34$ ; NS) by subchronic WIN 55,212-2 (Figure 1).



**Figure 1** Lever-press responses during extinction at an active and inactive lever. Rats subchronically pre-treated with the lowest dose of WIN 55,212-2 showed the highest responding at the active lever (*i.e.*, higher resistance) to extinction. Data represents mean  $\pm$  SEM responses for N = 7 - 8 per group) \*  $p < 0.05$  vs. 3 mg/kg (Tukey HSD *post hoc* test).

A main effect of treatment was observed in responding at the active lever between the different groups during conditioned reinstatement ( $F_{3,28} = 5.28$ ;  $p < 0.01$ ). Similar to its effects on extinction, subchronic treatment with WIN 55,212-2 modified reinstatement responses in a dose-dependent manner, with the lowest dose producing the highest level of responding at the active lever. The increase in responding with the lowest dose not only was higher than that seen with the highest dose of subchronic WIN 55,212-2 but as well as compared with vehicle (\*  $p < 0.05$  vs. vehicle, \*\*  $p < 0.01$  vs. 3 mg/kg). Responding at the inactive lever was negligible and not altered ( $F_{3,28} = 3.63$ ;  $p = 0.78$ ; NS) by subchronic WIN 55,212-2 (Figure 2).

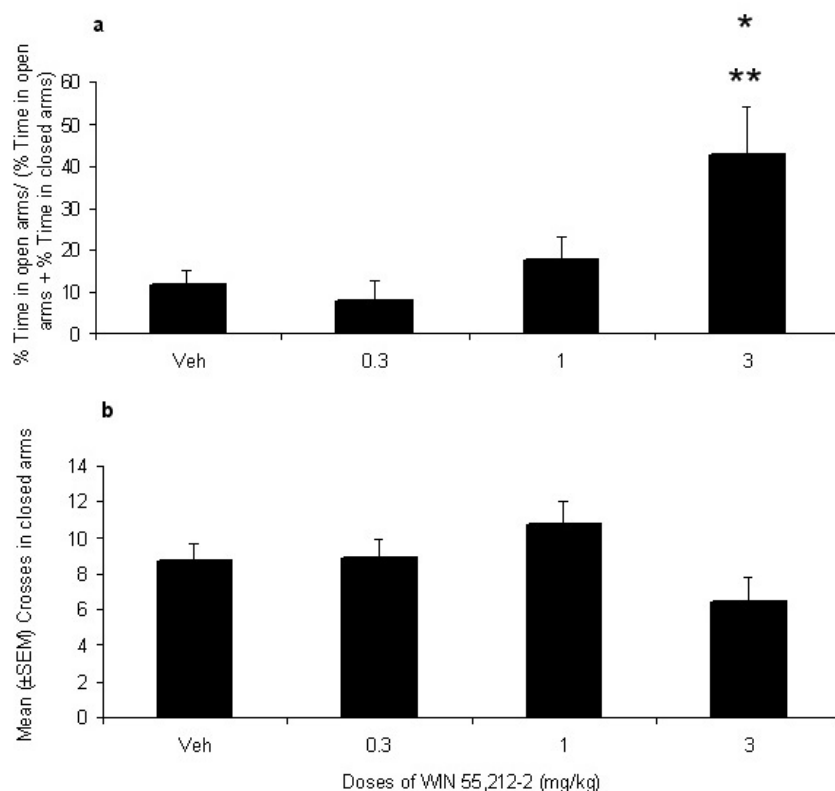


**Figure 2** Lever-press responses during cue-induced reinstatement at the previously active and inactive lever. The lowest dose of subchronic WIN 55,212-2 produced the highest responding at the active lever during conditioned-reinstatement. Data represent mean  $\pm$  SEM responses for N = 7 - 8 per group) \*  $p < 0.05$  vs. vehicle, \*\*  $p < 0.01$  vs. 3 mg/kg (Tukey HSD *post hoc* test).

### **Elevated Plus-Maze Test**

We examined whether the ability of a subchronic treatment with WIN 55,212-2 to alter drug seeking behavior in the extinction and cue-induced reinstatement tests is associated with modulation of anxiety-like behavior.

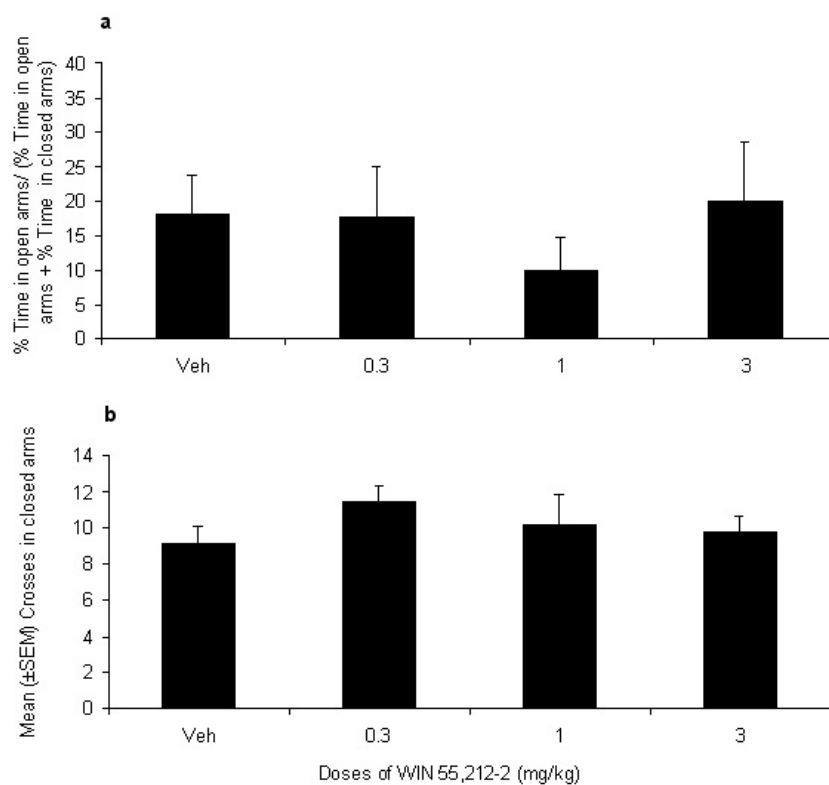
In rats with a history of cocaine self-administration ( $n = 7-8$  per group) statistical analysis revealed a main effect of subchronic WIN 55,212-2 treatment ( $F_{3,28} = 5.20$ ;  $p < 0.01$ ) on plus maze performance expressed as % time in open arms / (% time in open arms + % time in close arms). WIN 55,212-2 modulated this behavior in a dose-dependent manner with the lowest subchronic dose resulting in the lowest % time spent in open arms. The increase in % time spent in open arms associated with the highest subchronic dose not only was higher than that seen after subchronic treatment with the lowest dose of WIN 55,212-2 but also compared to vehicle (\*  $p < 0.05$  vs. vehicle, \*\*  $p < 0.01$  vs. 0.3 mg/kg). The number of crossing into the closed arms, a reliable measure of locomotor activity (Cruz *et al*, 1994), was not altered ( $F_{3,28} = 2.26$ ;  $p = 0.11$ ; NS) by subchronic WIN 55,212-2 (Figure 3).



**Figure 3** Effects of subchronic treatment with WIN 55,212-2 on anxiety-like behavior and locomotor activity in the elevated plus-maze test in rats with a history of cocaine self-administration. (a) Rats subchronically treated with the highest dose of WIN 55,212-2 showed the highest anxiolytic-like effect. (b) Locomotor activity was not altered by subchronic WIN 55,212-2. Data represent mean  $\pm$  SEM (N = 7 - 8 per group). \*  $p < 0.05$  vs. vehicle, \*\*  $p < 0.01$  vs. 0.3 mg/kg (Tukey HSD *post hoc* test).

Furthermore, a separate group of rats that underwent the identical subchronic treatment with WIN 55,212-2 (n = 9 per group) but without a history of cocaine self-administration (or catheter implantation) was used. Statistical analysis did not reveal significant effects of subchronic treatment with WIN 55,212-2 on either % time spent in the open arms ( $F_{3,35} =$

0.45;  $p = 0.72$ ; NS) or on number of crossing into closed arms ( $F_{3,35} = 0.79$ ;  $p = 0.51$ ; NS) (Figure 4).



**Figure 4** Effects of subchronic treatment with WIN 55,212-2 on anxiety-like behavior and locomotor activity in the elevated plus-maze test in rats without a history of cocaine self-administration. (a) Neither anxiety-like behavior (b) nor locomotor activity was altered by subchronic WIN 55,212-2. Data represent mean  $\pm$  SEM ( $N = 9$  per group).

## DISCUSSION

The major finding was that subchronic treatment with the cannabinoid agonist WIN 55,212-2 during a period of abstinence following intravenous cocaine self-administration results in a dose-dependent modification of cocaine-seeking behavior in extinction and conditioned reinstatement tests and produces anxiolytic-like effects as measured by the elevated plus-maze test. The direction of these dose-dependent modulations was inverted. While subchronic pretreatment with the lowest dose of WIN 55,212-2 produced the greatest resistance to extinction and reinstatement, the highest dose of WIN 55,212-2 was associated with the greatest anxiolytic-like effect without significantly affecting motor activity, as inferred by the absence of differences between WIN 55,212-2-treated rats and vehicle controls in either the number of entries into the closed arm of the elevated-plus maze or in the number of responses at the inactive lever in the extinction and reinstatement tests.

To our knowledge, this is the first study demonstrating effects of subchronic cannabinoid agonist treatment implemented during forced abstinence from daily cocaine self-administration on extinction of cocaine-reinforced behavior. The modification of resistance to extinction and cue-induced reinstatement following subchronic cannabinoid agonist treatment observed here confirms a role of the cannabinoid system in cocaine-seeking and vulnerability to relapse. In this context, it should be pointed out the subchronic WIN 55,212-2 pretreatment across doses altered resistance to extinction and reinstatement in the same direction, consistent with existing evidence that resistance to extinction predicts cue-induced reinstatement (Shaham *et al*, 2003).

Cocaine has been reported to produce anxiety in humans and anxiogenic-like behavioral effects in animals (Blanchard and Blanchard, 1999; Ettenberg, 2004). These effects are associated with both acute and chronic administration of the drug (Yang *et al*, 1992) and cocaine withdrawal (Wood and Lal, 1987). Importantly, cues associated with repeated cocaine treatment can elicit anxiety-like behavior in the absence of the drug (DeVries and Pert, 1998). Drug cues also can induce both cocaine craving and anxiety, paired with activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis (Sinha *et al*, 2003), suggesting that overlap exists between

neural substrates controlling craving evoked by drug cues and stress (Sinha *et al*, 2000; Weiss, 2005). Finally, the anxiogenic effects of cocaine can be attenuated by CB<sub>1</sub> agonists (Hayase *et al*, 2005). Considering this evidence, one may speculate that the anxiolytic consequences of subchronic treatment with the highest dose of WIN 55,212-2 in the elevated plus maze test may have contributed to the attenuation of anxiogenic effects exerted by environmental cues during the extinction and cue reinstatement tests. Biphasic dose-effect curves for the behavioral effects of cannabinoids have been reported previously (Chaperon and Thiebot, 1999). Consistent with this dose-response profile, the lowest dose of subchronic WIN 55,212-2 provoked the greatest resistance to extinction and reinstatement while at the same time producing the highest anxiety-like response in the elevated plus maze. Hypersensitization to drug and drug-associated stimuli due to neuroadaptations is a crucial factor in relapse (Robinson and Berridge, 2001). To date, behavioral cross-sensitization between cocaine and cannabinoids and CB<sub>1</sub> participation in psychomotor sensitization to cocaine have not yet been demonstrated (Arnold, 2005). However, it cannot be fully ruled out that an enhanced response (sensitization) to the incentive actions of the cocaine cues contributed to the increased cocaine-seeking response in rats treated with the lowest dose of subchronic WIN 55,212-2.

Controversial data exist concerning the ability of cannabinoids to modulate emotional states such as anxiety. Both anxiolytic- and anxiogenic-like effects have been reported with both enhancers and blockers of endocannabinoid neurotransmission (Witkin *et al*, 2005). Although it is well-documented that acute administration of CB<sub>1</sub> agonists induce anxiolytic effects at low doses and anxiety-like behavior at high doses (Navarro *et al*, 1997; Valverde, 2005; Viveros *et al*, 2005), the modulation of emotional responses by repeated administration of cannabinoid agonists, as in the present study, still remains to be systematically elucidated. It is interesting to note that the subchronic treatment with WIN 55,212-2 did not affect anxiety levels in the elevated plus-maze test in rats without a history of cocaine self-administration, but had dose-dependent anxiolytic-like consequences in rats with a history of self-administration. A very recent report indicates that, in mice, acute administration of WIN 55,212-2 produces anxiolytic effects on the elevated plus-maze only at low doses (Patel and Hillard, 2006). Although slight spontaneous withdrawal signs (wet-dog shakes and facial rubs) have been reported 24 h after a four-day treatment period with an intermediate dose of WIN

55,212-2 (Aceto *et al*, 2001), chronic treatment with the agonist HU-210 did not alter behavior on the elevated plus-maze (Hill and Gorzalka, 2006). The finding that subchronic WIN 55,212-2 pretreatment produced anxiolytic effects only in rats with a history of cocaine self-administration suggests a specific link between the consequences of chronic cocaine exposure and endocannabinoid function in the modulation of susceptibility to anxiety.

The present data provide no direct insight into the neural mechanisms by which subchronic WIN 55,212-2 produced the behavioral changes observed. The alterations in cocaine-seeking and anxiety-like behavior may have been the result of CB<sub>1</sub> cannabinoid receptor activation. However, modulation of neural systems other than cannabinoid receptors by subchronic WIN 55,212-2 may also be responsible to a certain extent for these results. For example, WIN 55,212-2 and other agents acting at the CB<sub>1</sub> receptor interact with GABA<sub>A</sub> receptors, the corticotrophin-releasing factor, cholecystokinin, endogenous opioid and serotonergic systems (Viveros *et al*, 2005). Interestingly, the hypothalamic-pituitary-adrenal axis may have a common role in anxiety-related responses (Sinha *et al*, 2003), cue-induced reinstatement of extinguished cocaine seeking (Goeders and Clampitt, 2002), and behavioral effects of cannabinoids (Rodriguez de Fonseca *et al*, 1997). In this line, recent studies have shown that chronic cocaine exposure decreased the levels of CB<sub>1</sub> receptor mRNA in the ventromedial hypothalamic nucleus (González *et al*, 2002a), which forms part of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, and that orexin neurons in the lateral hypothalamus, probably by a regulatory role of the endocannabinoid system (Hilaret *et al*, 2003), became activated by cues associated with cocaine and altered relapse (Harris *et al*, 2005). Future research will be needed to confirm this suspicion and to elucidate the role of these neural substrates in the neurobiological effects produced by pharmacological manipulation of the cannabinoid system.

In conclusion, the present findings indicate that subchronic treatment with the cannabinoid agonist WIN 55,212-2 alters, in a biphasic and dose-sensitive fashion, cocaine seeking behavior in extinction and cue-induced reinstatement tests in association with modulation of anxiety-like behavior. The direction of changes in cocaine-seeking, inversely linked to the direction of changes in anxiety-like behavior as measured on the elevated plus



maze, suggests an important role of the endocannabinoid system in the vulnerability to relapse. The anxiolytic effects of subchronic treatment with the highest dose of WIN 55,212-2, only shown in the group with a history of cocaine self-administration, is suggestive of a specific link between the consequences of chronic cocaine exposure and endocannabinoid function in the modulation of susceptibility to anxiety. By contrast, the high resistance to extinction and enhanced reinstatement produced by subchronic treatment with the lowest dose of WIN 55,212-2 suggests that cannabinoid antagonists may prove to offer treatment promise for craving and relapse prevention. However, further research will be required to understand the precise implications of these findings with respect to the treatment target potential of the cannabinoid system.

**ACKNOWLEDGEMENTS**

This work was supported by NIH/NIDA grant DA 07348 (F.W.) and by the Spanish Fondo de Investigación Sanitaria (Red de Trastornos Adictivos G03/05), the Comunidad Autónoma de Madrid GR/SAL/0541/2004, the Plan Nacional Sobre Drogas (Ministerio de Sanidad), The European Fifth Framework Programme QLRT-2000-01691 and the MEC SAF2005-04926, (M.N.). Gustavo González-Cuevas is a predoctoral fellow of the Ministerio de Educación y Cultura in Spain.

## REFERENCES

- Aceto MD, Scates SM, Martin BB (2001). Spontaneous and precipitated withdrawal with a synthetic cannabinoid, WIN 55,212-2. *Eur J Pharmacol* 416: 75-81.
- Arnold JC, Topples AN, Hunt GE, McGregor IS (1998). Effects of pre-exposure and co-administration of the cannabinoid receptor agonist CP 55,940 on behavioral sensitization to cocaine. *Eur J Pharmacol* 354: 9-16.
- Arnold JC (2005). The role of the endocannabinoid transmission in cocaine addiction. *Pharmacol Biochem Behav* 81: 396-406.
- Blanchard DC, Blanchard RJ (1999). Cocaine potentiates defensive behaviours related to fear and anxiety. *Neurosci Biobehav Rev* 23: 981-991.
- Caine SB, Lintz Z, Koob GF (1993). Intravenous drug self-administration techniques in animals. In Sahgal A (ed), *Behavioral neuroscience*. New York, IRL at Oxford UP, pp 117-143.
- Chaperon F, Thiebot MH (1999). Behavioral effects of cannabinoid agents in animals. *Critical Rev Neurobiol* 13: 243-281.
- Cossu G, Ledent C, Fattore L, Imperato A, Bohme GA, Parmentier M, Fratta W (2001). Cannabinoid CB<sub>1</sub> receptor knockout mice fail to self-administer morphine but not other drugs of abuse. *Behav Brain Res* 118: 61-65.
- Cruz, AP, Frei, F, Graeff, FG (1994). Ethopharmacological analysis of rat behavior on the elevated plus-maze. *Pharmacol Biochem Behav* 49: 171-176
- De Vries TJ, Schoffelmeer AN (2005). Cannabinoid CB<sub>1</sub> receptors control conditioned drug seeking. *Trends Pharmacol Sci* 26: 420-426.
- De Vries TJ, Shaham Y, Homberg JR, Crombag H, Schuurman K, Dieben J, Vanderschuren LJ, Schoffelmeer AN (2001). A cannabinoid mechanism in relapse to cocaine seeking. *Nature Med* 7: 1151-1154.
- DeVries AC, Pert A (1998). Conditioned increases in anxiogenic-like behavior following exposure to contextual stimuli associated with cocaine are mediated by corticotropin-releasing factor. *Psychopharmacology* 137: 333-340.
- Ettenberg A (2004). Opponent process properties of self-administered cocaine. *Neurosci Biobehav Rev* 27: 721-728.

Fattore L, Martellotta MC, Cossu G, Mascia MS, Fratta W (1999). CB<sub>1</sub> cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2 decrease intravenous cocaine self-administration in rats. *Behav Brain Res* 104: 141-146.

Ferrari F, Ottani A, Giuliani D (1999). Influence of the cannabinoid agonist HU-210 on cocaine- and CQP 201-403-induced behavioral effects in rat. *Life Sci* 65: 823-831.

Foltin RW, Fischman MW, Pippen PA, Kelly TH (1993). Behavioral effects of cocaine alone and in combination with ethanol or marijuana in humans. *Drug Alcohol Depend* 32: 93-106.

Freund TF, Katona I, Piomelli D (2003). Role of endogenous cannabinoids in synaptic signalling. *Physiol Rev* 83: 1017-1066.

Goeders NE, Clampitt DM (2002). Potential role for the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in the conditioned reinforcer-induced reinstatement of extinguished cocaine seeking in rats. *Psychopharmacology* 161: 222-232.

Gonzalez S, Fernandez-Ruiz J, Spargaglione V, Parolaro D, Ramos JA (2002a). Chronic exposure to morphine, cocaine or ethanol in rats produced different effects in brain cannabinoid CB<sub>1</sub> receptor binding and mRNA levels. *Drug Alcohol Depend* 66: 77-84.

Gonzalez S, Cascio MG, Fernandez-Ruiz J, Fezza F, Di Marzo V, Ramos, JA (2002b). Changes in endocannabinoid contents in the brain of rats chronically exposed to nicotine, ethanol or cocaine. *Brain Res* 954: 73-81.

Harris, GC, Wimmer, M, Aston-Jones, G (2005). A role for lateral hypothalamic orexin neurons in reward seeking. *Nature* 437: 556-559.

Hayase T, Yamamoto Y, Yamamoto K (2005). Persistent anxiogenic effects of a single or repeated doses of cocaine and methamphetamine: interactions with endogenous cannabinoid receptor ligands. *Behav Pharmacol* 16: 395-404.

Hilairret, S, Bouaboula, M, Cerriere, D, Le Fur, G, Casellas, P (2003). Hypersensitization of the Orexin 1 receptor by the CB<sub>1</sub> receptor: evidence for cross-talk blocked by the specific CB<sub>1</sub> antagonist, SR141716. *J Biol Chem* 278: 23731-23737.

Hill MN, Gorzalka BB (2006). Increased sensitivity to restraint stress and novelty-induced emotionality following long-term, high dose cannabinoid exposure. *Psychoneuroendocrinology* 31: 526-536.

Koob GF, Le Moal M (2006). Psychostimulants. In Koob, GF, Le Moal, M (Eds), *Neurobiology of addiction*. San Diego, Elsevier Inc, pp. 69-120.

Lesscher HM, Hoogveld E, Burbach JP, van Ree JM, Gerrits MA (2004). Endogenous cannabinoids are not involved in cocaine reinforcement and development of cocaine-induced behavioral sensitization. *Eur Neuropsychopharmacol* 15: 31-37.

Li CS, Milivojevic V, Constable RT, Sinha, R (2005). Recent cannabis abuse decreased stress-induced BOLD signals in the frontal and cingulate cortices of cocaine dependent individuals. *Psychiatry Res* 140: 271-280.

Lopez-Moreno JA, Gonzalez-Cuevas G, Rodriguez de Fonseca F, Navarro M (2004). Long-lasting increase of alcohol relapse by the cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2 during alcohol deprivation. *J Neurosci* 24: 8245-8252.

Lukas SE, Sholar M, Kouri E, Fukuzako H, Mendelson JH (1994). Marihuana smoking increases plasma cocaine levels and subjective reports of euphoria in male volunteers. *Pharmacol Biochem Behav* 48: 715-721.

Maldonado R, Valverde O, Berrendero F (2006). Involvement of the endocannabinoid system in drug addiction. *Trends Neurosci* 29: 225-232

Martin M, Ledent C, Parmentier M, Maldonado R, Valverde, O (2000). Cocaine, but not morphine, induces conditioned place preference and sensitization to locomotor responses in CB<sub>1</sub> knockout mice. *Eur J Neurosci* 12: 4038-4046.

Marx J (2006). Drugs inspired by a drug. *Science* 311: 322-325.

Martellotta, MC, Cossu G, Fattore L, Gessa GL, Fratta W (1998). Self-administration of the cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2 in drug-naïve mice. *Neuroscience* 85: 327-330.

Navarro M, Hernandez E, Muñoz RM, Del Arco I, Villanua MA, Carrera MR, Rodriguez de Fonseca F (1997). Acute administration of the CB<sub>1</sub> cannabinoid receptor antagonist SR 141716A induces anxiety-like responses in the rat. *Neuroreport* 8: 491-496.

Patel S, Hillard, CJ (2006). Pharmacological evaluation of cannabinoid receptor ligands in a mouse model of anxiety: further evidence for an anxiolytic role for endogenous cannabinoid signaling. *J Pharmacol Exp Ther* 318: 304-311.

Robinson TE, Berridge KC (2001). Mechanisms of action of addictive stimuli. Incentive-sensitization and addiction *Addiction* 96: 103-114.

Rodriguez de Fonseca F, Carrera MR, Navarro M, Koob GF, Weiss F (1997). Activation of corticotropin-releasing factor in the limbic system during cannabinoid withdrawal. *Science* 276: 2050-2054.

Shaham Y, Shalev U, Lu L, de Wit H, Stewart J (2003). The reinstatement model of drug relapse: history, methodology and major findings. *Psychopharmacology* 168: 3-20.

Sinha R, Fuse T, Aubin LR, O'Malley SS (2000). Psychological stress, drug-related cues and cocaine craving. *Psychopharmacology* 152: 140-148.

Sinha R, Talih M, Malison R, Cooney N, Anderson GM, Kreek MJ (2003). Hypothalamic-pituitary-adrenal axis and sympatho-adreno-medullary responses during stress-induced and drug cue-induced cocaine craving states. *Psychopharmacology* 170: 62-72.

Soria G, Mendizabal V, Tourino C, Robledo P, Ledent C, Parmentier M, Maldonado R, Valverde O (2005). Lack of CB<sub>1</sub> cannabinoid receptor impairs cocaine self-administration. *Neuropsychopharmacology* 30: 1670-1680.

Valverde O (2005). Participation of the cannabinoid system in the regulation of emotional-like behavior. *Curr Pharm Des* 11:3421-3429.

Viveros MP, Marco EM, File, SE (2005). Endocannabinoid system and stress and anxiety responses. *Pharmacol Biochem Behav* 81: 331-342.

Weiss, F (2005). Neurobiology of craving, conditioned reward and relapse. *Curr Opin Pharmacol* 5: 9-19.

Witkin JM, Tzavara ET, Nomikos GG (2005). A role for cannabinoid CB<sub>1</sub> receptors in mood and anxiety disorders. *Behav Pharmacol* 16: 315-331.

Wood DM, Lal H (1987). Anxiogenic properties of cocaine withdrawal. *Life Sci* 41: 143-146.

Yang XM, Gorman AL, Dunn AJ, Goeders NE. (1992). Anxiogenic effects of acute and chronic cocaine administration: neurochemical and behavioral studies. *Pharmacol Biochem Behav* 41: 643-650.

## 8.1.- ARTÍCULO 2

### **Effects Of Cannabinoid CB<sub>1</sub> Receptor Antagonist Rimonabant On Distinct Measures Of Impulsive Behavior In Rats**

**Tommy Pattij<sup>1,\*</sup>, Mieke C.W. Janssen<sup>1</sup>, Inga Schepers<sup>1</sup>, Gustavo González-Cuevas<sup>2</sup>, Taco J. de Vries<sup>1</sup>, Anton N.M. Schoffelmeer<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Department of Anatomy and Neurosciences, Research Institute Neurosciences *Vrije Universiteit*, Center for Neurogenomics and Cognitive Research, VU medical center, Van der Boechorststraat 7, 1081 BT Amsterdam, The Netherlands

<sup>2</sup>Laboratorio de Psicobiología, Facultad de Psicología, Campus Somosaguas, Universidad Complutense de Madrid, E-28223, Madrid, Spain

\*Correspondence: Tommy Pattij, Department of Anatomy and Neurosciences, Research Institute Neurosciences *Vrije Universiteit*, Center for Neurogenomics and Cognitive Research, VU medical center, Van der Boechorststraat 7, 1081 BT Amsterdam, The Netherlands. Tel: +31 20 44 48090, Fax: +31 20 44 48100, E-mail: [t.pattij@vumc.nl](mailto:t.pattij@vumc.nl)

## ABSTRACT

*Rationale* Pathological impulsivity is a prominent feature in several psychiatric disorders, but detailed understanding of the specific neuronal processes underlying impulsive behavior is as yet lacking.

*Objectives* As recent findings have suggested involvement of the brain cannabinoid system in impulsivity, the present study aimed at further elucidating the role of cannabinoid CB<sub>1</sub> receptor activation in distinct measures of impulsive behavior.

*Materials and methods* The effects of the selective cannabinoid CB<sub>1</sub> receptor antagonist, rimonabant (SR141716A) and agonist WIN55,212-2 were tested in various measures of impulsive behavior, namely, inhibitory control in a five choice serial reaction time task (5-CSRTT), impulsive choice in a delayed reward paradigm, and response inhibition in a stop-signal paradigm.

*Results* In the 5-CSRTT, SR141716A dose-dependently improved inhibitory control by decreasing the number of premature responses. Furthermore, SR141716A slightly improved attentional function, increased correct response latency, but did not affect other parameters. The CB<sub>1</sub> receptor agonist WIN55,212-2 did not change inhibitory control in the 5-CSRTT and only increased response latencies and errors of omissions. Coadministration of WIN55,212-2 prevented the effects of SR141716A on inhibitory control in the 5-CSRTT. Impulsive choice and response inhibition were not affected by SR141716A at any dose, whereas WIN55,212-2 slightly impaired response inhibition but did not change impulsive choice.

*Conclusions* The present data suggest that particularly the endocannabinoid system seems involved in some measures of impulsivity and provides further evidence for the existence of distinct forms of impulsivity that can be pharmacologically dissociated.

**Keywords:** cannabinoid; cognition; inhibitory control; impulsive choice; response inhibition; SR141716A; WIN55,212-2



## INTRODUCTION

Despite its relative recent discovery, the central endocannabinoid system has been implicated in a variety of behaviors such as food intake (for review, see Di Marzo and Matias 2005) and nociception (for review, see Cravatt and Lichtman 2004), and in mediating the reinforcing properties of drugs of abuse (for review, see De Vries and Schoffelmeer 2005). In addition, the endocannabinoid system has been shown to play an important role in various cognitive processes. In this respect, memory encoding, retrieval, and extinction processes have received most interest (e.g., Marsicano et al. 2002; Takahashi et al. 2005; Varveletal. 2005; for review, see Lichtman et al. 2002), presumably due to the high expression level of CB<sub>1</sub> receptors in the hippocampal formation (Egertova and Elphick 2000; Tsouetal. 1998). High densities of CB<sub>1</sub> receptors are also present in frontal cortical and striatal regions (Egertova and Elphick 2000; Tsou et al. 1998), suggesting involvement of the endocannabinoid system in executive functions that appear to be largely controlled by frontal corticostriatal systems (for review, see Miller and Cohen 2001). Indeed, several clinical and preclinical observations have demonstrated that  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol (THC), the principle active cannabinoid of *Cannabis sativa* and other synthetic cannabimimetics impair selective attention (Arguello and Jentsch 2004; Solowij et al. 1995; Verrico et al. 2004) and behavioral flexibility (Egerton et al. 2005; Hill et al. 2006), alter time estimation (Han and Robinson 2001, McDonald et al. 2003), and impair working memory (Ilan et al. 2004; Jentsch et al. 1997). Nonetheless, to date, little is known about the involvement of the endocannabinoid system in other executive functions such as inhibitory control processes subserving impulsivity.

Pathological levels of impulsive behavior are important features in attention-deficit/hyperactivity disorder, substance-related disorders, bipolar disorders and personality disorders (American Psychiatric Association 2000). Further elucidating the neurobiological basis of impulsivity may therefore enhance our understanding of these psychiatric disorders. It is becoming increasingly clear, however, that the concept impulsivity is multifaceted and covers various distinct and independent measures. These measures range from poor inhibitory control (impulsive action) to probability and delay aversion or impulsive choice (Barkley 1997; Evenden 1999; Moeller et al. 2001). Recent studies have implicated CB<sub>1</sub> receptors in

some of these measures of impulsivity. For instance, it has been shown that acute THC impairs response inhibition in healthy volunteers, whereas time estimation and impulsive choice were not affected (McDonald et al. 2003). On the other hand, it has been demonstrated more recently that marijuana acutely increases risk taking in volunteers (Lane et al. 2005). Collectively, these data suggest a role of the cannabinoid system in impulsivity, although its precise role therein is still unclear.

The present experiments were aimed at further elucidating the importance of cannabinoid CB<sub>1</sub> receptor activation on distinct measures of impulsivity. To this end, we tested the effects of the potent and selective CB<sub>1</sub> receptor antagonist rimonabant (SR141716A; Rinaldi-Carmona et al. 1994) and agonist WIN55,212-2 (D'Ambra et al. 1992) on impulsive behavior in various operant paradigms measuring different and presumably independent aspects of impulsivity (for review, see Winstanley et al. 2006), namely, (1) the five-choice serial reaction time task to measure inhibitory control; (2) the delayed reward paradigm to measure impulsive choice, and (3) the stop-signal paradigm to measure response inhibition.

## MATERIALS AND METHODS

### Subjects

In total, 48 male Wistar rats were obtained from Harlan CPB (Horst, The Netherlands). At the start of the experiments, animals were 12 weeks old, weighed approximately 250 g, and were housed in pairs in macrolon cages (42.5× 26.6×18.5 cm;  $l \times w \times h$ ) under a reversed 12 h light/dark cycle (lights on at 7:00 P.M.) at controlled room temperature ( $21 \pm 2^\circ\text{C}$ ) and relative humidity of  $60 \pm 15\%$ . Animals were maintained at approximately 90% of their free-feeding weight, starting 1 week before the beginning of the experiments by restricting the amount of standard rodent food pellets (Harlan Teklad Global Diet, Blackthorn, UK). Water was available ad libitum throughout the entire experiment. All experiments were conducted with the approval of the animal ethical committee of the *Vrije Universiteit*, Amsterdam, The Netherlands.

### Apparatus

Experiments were conducted in 12 identical rat five-hole nose poke operant chambers with stainless steel grid floors (MED-NPW-5L, Med Associates, St. Albans, VT, USA) housed in sound-insulating and ventilated cubicles. Set in the curved wall of each box was an array of five circular holes, 2.54 cm in diameter, 2.2 cm deep, and 2.25 cm above floor level. Each hole was equipped with an infrared detector located across each nose poke unit 1.0 cm from the front, and a yellow LED stimulus light (6.4 mm in diameter). Rodent food pellets (45 mg, Formula P, Research Diets, New Brunswick, NJ, USA) could be delivered at the opposite wall via a dispenser. In addition, the chamber could be illuminated by a white houselight, and sound stimuli were generated using a programmable audio generator (ANL-926, Med Associates). A computer equipped with MED-PC version 1.17 (Med Associates) controlled experimental sessions and recorded data. Animals were tested once daily from Monday until Friday, during the dark phase of the light/dark cycle.

### **Behavioral procedures**

Separate groups of  $n=16$  animals were trained for each different paradigm, and for all procedures, a similar habituation and magazine training protocol was used. This protocol consisted of a habituation exposure to the boxes for 20 min with the houselight on and the food cup containing three food pellets for two consecutive sessions. Subsequently, in the next two sessions, in total, 100 pellets were delivered with an average delay of 15 s, to allow the animals to associate the sound of pellet delivery with reward.

### **Five-choice serial reaction time task**

A more detailed description of training in the 5-CSRTT in our laboratory has been reported previously (Van Gaalen et al. 2006a). In short, rats were trained 5 days per week to detect and respond to a brief visual stimulus in one of five holes to obtain a food reward. Each session terminated after 100 trials or 30 min, whichever occurred first. Initially the duration of this stimulus was 32 s and was gradually decreased to 1 s over sessions until animals reached stable baseline performance (accuracy  $>80\%$  correct choice and  $<20\%$  errors of omission). Responding during stimulus presentation or within the limited hold (LH) period of 2 s was counted as a correct response. Incorrect, premature responses and errors of omission (no responses or a response after the LH) did not lead to the delivery of a food reward and resulted in a 5-s time-out period during which the houselight was extinguished, whereas perseverative responses, *i.e.*, repeated responding during the presentation of the stimulus, were measured but did not have any programmed consequences. Two different measures of inhibitory control were measured, namely, (1) the number of premature responses before the onset of the visual stimulus, reflecting aspects of loss of inhibitory control and (2) the number of perseverative responses into the stimulus hole after correct choice, presumably measuring aspects of compulsive behavior. In addition, the following other behavioral parameters were measured that reflect task performance, namely, (3) accurate choice, *i.e.*, percentage correct responses calculated as  $[\text{number correct trials}/(\text{correct}+\text{incorrect trials})]\times 100$ ; (4) latency to make a correct choice, *i.e.*, the mean time between stimulus onset and nose poke in the illuminated

hole; (5) omission errors, *i.e.*, the number of omitted trials during a session; and (6) feeder latency, *i.e.*, the latency to collect a pellet following correct choice.

### **Delayed-reward paradigm**

In addition to the 5-CSRTT, the delayed reward paradigm, as employed in our laboratory, has also been described more elaborately (Van Gaalen et al. 2006b). Briefly, rats were trained 5 days per week in this paradigm. In the final stages of training and during drug testing, a session was divided into 5 blocks of 12 trials, each block starting with 2 forced trials during which, after initiating the trial through a nose poke into the central hole, either the left hole or the right hole was illuminated in a counterbalanced fashion. In the next ten trials, the animals had a free choice, and both the left and right hole were illuminated. Poking into one position resulted in the immediate delivery of a small reinforcer (one food pellet), whereas a nose poke into the other position resulted in the delivery of a large, but delayed, reinforcer (four food pellets). If an animal did not make a response during this choice phase within 10 s, an intertrial interval was initiated, and the trial was counted as an omission. The position associated with the small and large reinforcer was always the same for each individual and counterbalanced for the group. The delay for the large reinforcer progressively increased within a session per block of 12 trials as follows: 0, 10, 20, 40, and 60 s. Responding into non-illuminated holes during the test was recorded, but had no programmed consequences. The behavioral measure to assess task performance, *i.e.*, the percentage preference for the large reinforcer as a function of delay, was calculated as:  $\frac{\text{number of choices for the large reinforcer}}{\text{number choices large+small reinforcers}} \times 100$ . In addition, we calculated the total number of omitted choice trials within a session.

### **Stop-signal paradigm**

*Shaping* During initial shaping for two consecutive sessions, both the middle nose poke hole and the hole immediately adjacent to the right or left were illuminated (counterbalanced for all subjects). A nose poke into either one of the two active holes extinguished the visual stimuli in both holes and resulted in delivery of a pellet. After an intertrial interval of 10 s, the next trial

started. Nose poking within this intertrial interval period did not have any programmed consequences. A session ended when the rat had earned 100 pellets or after 30 min, whichever occurred first.

*Shaping: go trials* During the next phase, only the stimulus light in the middle nose poke hole was illuminated (start stimulus). A response into the active middle hole switched off the stimulus light and was followed by the illumination of the stimulus light (go stimulus) in the hole immediately adjacent to the left or right. A nose poke into this illuminated hole switched off the stimulus light and resulted in the delivery of a pellet. After an intertrial interval of 10 s, the next trial started. Responding in the start stimulus hole during presentation of the go stimulus was counted as perseverative start pokes, whereas prestimulus responses into the go stimulus hole resulted in a timeout period of 5 s. Subsequently, the response requirements into the start stimulus hole before onset of a go stimulus were varied into a variable ratio 2 schedule (VR2, *i.e.*, either FR1, FR2, or FR3) to avoid the development of a prepotent response pattern from start stimulus to go stimulus hole and to ensure that animals waited until the appearance of a go stimulus. During this phase, rats were trained until they reliably completed 200 successful go trials. Following this phase, a LH period was introduced for the go stimulus and only during this period was the go stimulus present. Initially, the LH was set at 5 s, and in subsequent sessions, was individually titrated to meet performance criterion of 80% successful hits and <20% prestimulus responses. Omissions of a go stimulus response within the LH resulted in a 5-s time-out period, during which both the houselight and stimulus light were turned off. From initial shaping to criterion performance in this phase, 26 sessions were required.

*Shaping: introduction stop signal* During the final training phase, a stop signal was introduced in 25% of all trials. Initially, this stop signal (duration, 50 ms; frequency, 4,500 Hz; intensity 80 dB) was contingent with the appearance of the go signal. Responding during the onset of the stop signal or during the LH immediately extinguished the go stimulus and houselight, turned off the stop signal, and was followed by a 5-s time-out. In contrast, if the animal successfully refrained from responding during a stop trial, a pellet was delivered. Initially, the LH during stop and go trials were equal; however, when performance during stop trials was

below 80% successfully inhibited stop trials, the LH during stop trials was lowered over sessions in steps of 100–200 ms until animals improved performance. Subsequently, the LH was then gradually increased in these individuals over sessions until the LH during both go and stop trials were equal. As soon as animals reached the criterion of approximately 90% successfully inhibited stop trials, delays for the onset of the stop signal were introduced. The stop-signal delays (SSD) were presented in a pseudorandom order, and to compensate for differences between rats, SSDs were based on each individual rats' mean reaction time on go trials in the preceding drug-free training session. SSDs were calculated as follows: mRT minus either 25, 50, 100, 200, or 400 ms. In addition, an equal amount of zero delays were presented during sessions. Drug testing commenced upon stable baseline performance for at least five consecutive sessions, *i.e.*, 80% accuracy during go trials and a significant SSD-dependent decrease in correctly inhibited stop trials. It took 30 sessions before animals reached stable baseline performance after the introduction of the stop signal; therefore, from initial shaping to stable baseline performance in the stop-signal paradigm, in total, 56 sessions were required.

#### **Stop-signal paradigm: estimation stop-signal reaction time and correction for omissions during go trials**

Calculations to estimate the stop-signal reaction times (SSRT) and a correction for omission errors were adapted from Logan (1994) and Solanto et al. (2001). For estimating the SSRT, data of the three SSDs of 200, 100, and 50 ms were used, as the probability of correct inhibition on these intervals was within the range of  $0.2 < p < 0.8$ , and thus, most informative for estimating SSRT (Band et al. 2003). For each of the three intervals, the probability of responding was calculated including a correction for nonresponses based on the number of omissions during the go trials, the latter, as omissions cannot be distinguished from successful inhibitions during stop trials. The following formula, adapted from Solanto et al. (2001) was used for these calculations:

$$| P(\text{responding}) = (x - \text{correctinhibitions})/x - xy |$$

where  $x$  is the number of stop-signal trials at each delay interval; correct inhibitions are the number of correctly inhibited trials, and  $y$  is the probability of omissions during the go trials

within the entire session. To calculate SSRTs, reaction times on all go trials were rank ordered. From this list with RTs, the “*n*th” RT was taken, where “*n*” was obtained by multiplying the total number of go trials by the probability of responding for a particular SSD. This RT value approximates the latency between onset of the go stimulus and completion of the stopping process. The SSRT for each interval is then obtained by subtracting the SSD interval from this RT. The average estimated SSRT that is used for the analyses in the present study is calculated by taking the mean of each SSRT at the three SSDs (200, 100, and 50 ms).

### **Drugs**

SR141716A was generated and kindly donated by Solvay Pharmaceuticals (Weesp, The Netherlands), whereas WIN55,212-2 was purchased from Tocris Biosciences (Bristol, United Kingdom). Both SR141716A and WIN55,212-2 were dissolved as described previously in a mixture of ethanol, Tween80, and sterile saline (ratio 1:1:18; cf. De Vries et al. 2001). In all experiments, SR141716A was injected 30 min before testing, whereas WIN55,212-2 was injected 20 min before testing. In all paradigms, the order of testing the drugs was (1) SR141716A and (2) WIN55,212-2. The drug combination was only performed in the five-choice serial reaction time task and followed the studies with SR141716A and WIN55,212-2. Drugs were freshly prepared each day before testing and intraperitoneally injected in a volume of 1 ml/kg bodyweight according to a Latin square design for both the dose–response studies and the drug combination on Tuesdays and Fridays, with baseline training sessions on the other weekdays.

### **Statistical analyses**

Data were subjected to repeated measures analysis of variance (ANOVA) with drug dose (all paradigms), delay to large reinforcer (delayed reward paradigm), and stop-signal delay (stop-signal paradigm) as within subjects variables using the Statistical Package for the Social Sciences version 11 (SPSS, Chicago, IL, USA).

The homogeneity of variance across groups was determined using Mauchly’s tests for equal variances, and in case of violation of homogeneity, corrected, and therefore, more



conservative Huynh–Feldt probability values were used for subsequent analyses. In the stop-signal paradigm, some further exploratory analyses were performed between mean go reaction times and the limited hold period using a bivariate Pearson correlation. In addition, the estimated SSRT data were also subjected to a median split analysis to assess whether SR141716A or WIN55,212-2 had differential effects on response inhibition in individuals with relatively “fast” or “slow” stopping abilities. In case of statistically significant main effects, further post hoc comparisons were conducted using Student–Newman–Keuls Tests. The level of probability for statistically significant effects was set at 0.05.

## RESULTS

### Effects of SR141716A and WIN55,212-2 on measures of inhibitory response control in the five-choice serial reaction time task

The number of premature responses, a measure of inhibitory control reflecting impulsive behavior, was dose dependently decreased by SR141716A [Fig. 1a;  $F_{3,45}=12.24$ ,  $p<0.001$ ], and further post hoc analyses revealed that all doses significantly lowered premature responding compared with vehicle, whereas the highest dose (3.0 mg/kg) even further lowered the number of premature responses compared with 1.0 mg/kg SR141716A. In contrast, perseverative responding after correct choice, a different measure of inhibitory control reflecting compulsive behavior, was not affected at any dose [Fig. 1b;  $F_{3,45}=1.84$ ,  $p=0.15$ ]. Attentional function was improved by SR141716A, and further analyses revealed that only 0.3 mg/kg SR141716A significantly increased the percentage of accurate choice from approximately 77% under vehicle conditions to 82% as shown in Table 1 [ $F_{3,45}=3.43$ ,  $p=0.025$ ]. In addition, a marginal, but significant, increase in the latency to make a correct choice was also detected, and further comparisons showed that only the high dose of 3.0 mg/kg significantly slowed correct response reaction time [Table 1;  $F_{3,45}=4.53$ ,  $p=0.007$ ]. The latency to collect a food reward and errors of omission, however, were not affected at any dose [Table 1; feeder latency:  $F_{3,45}=0.39$ ,  $p=0.65$  and omissions:  $F_{3,45}=1.30$ ,  $p=0.29$ ].

	Accuracy (%)	Response latency (ms)	Omissions (%)	Feeder latency (ms)
SR141716A				
Vehicle	77.2±2.4	336±9	5.4±1.1	954±48
0.3 mg/kg	82.0±1.9*	338±10	5.6±1.0	954±44
1.0 mg/kg	80.5±2.5	347±14	5.1±0.7	937±43
3.0 mg/kg	80.2±2.3	374±14*	7.3±1.0	939±37
WIN55,212-2				
Vehicle	77.7±2.5	324±7	3.9±0.7	956±53
0.3 mg/kg	79.6±2.3	333±10	3.4±0.7	910±41
1.0 mg/kg	77.2±2.3	380±23*	14.4±4.3*	943±44
3.0 mg/kg	76.8±2.7	399±17**	20.2±4.1**	1212±138

Table 1 Effects of SR141716A and WIN55,212-2 on measures of attentional function and motivation in the 5-CSRTT. Data depict mean± SEM \*p<0.05 \*\*p<0.005 vs vehicle

WIN55,212-2 did neither change the number of premature responses nor the number of perseverative responses after correct choice [Fig. 1c and d; premature responses:  $F_{3,45}=1.02$ ,  $p=0.39$  and perseverative responses:  $F_{3,45}=0.72$ ,  $p=0.54$  and feeder latency:  $F_{3,45}=3.19$ ,  $p=0.052$ ]. In contrast, errors of omission were increased, and latencies to make a correct choice were lengthened by WIN55,212-2 [omissions:  $F_{3,45}=7.44$ ,  $p=0.002$  and correct latency:  $F_{3,45}=6.59$ ,  $p=0.004$ ].

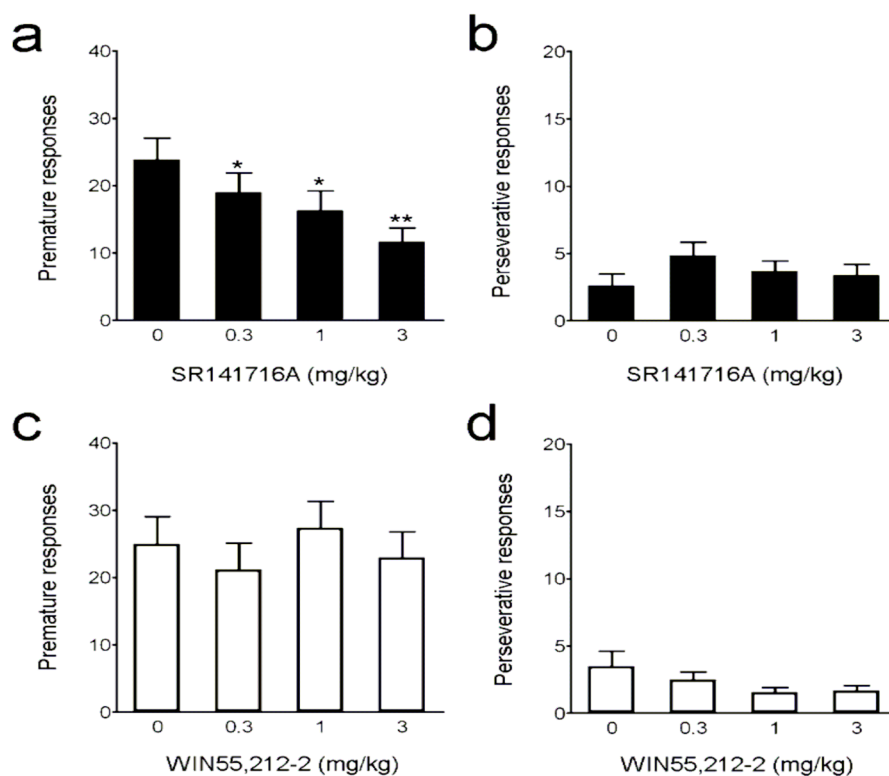


Fig. 1 Effects of SR141716A (a, b) and WIN55,212-2 (c, d) on different measures of inhibitory control in the 5-CSRTT. Data depict mean ( $\pm$ SEM) numbers of premature responses (a, c) and perseverative responses after correct choice (b, d). \* $p < 0.05$  and \*\* $p < 0.005$  vs vehicle

As shown in Fig. 2, the decrements in premature responding by 3.0 mg/kg SR141716A were prevented in premature responding by 3.0 mg/kg SR141716A were prevented in the presence of WIN55,212-2 at a dose of 1.0 mg/kg [ $F_{3,45} = 7.33$ ,  $p < 0.001$ ]. In addition, this selected inhibitory control as indicated by the absence of an effect of this dose on the number of premature responses.

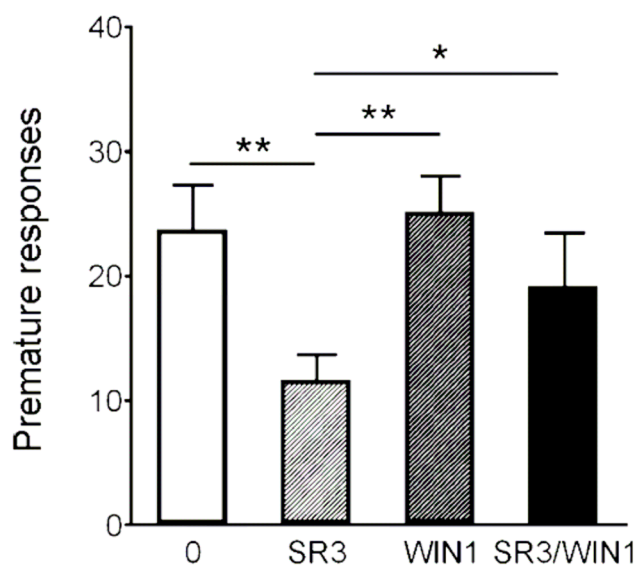


Fig. 2 Coadministration of WIN55,212-2 at 1.0 mg/kg (WIN1) prevents the effects of 3.0 mg/kg SR14716A (SR3) on inhibitory control in the 5-CSRTT. All data are depicted as mean ( $\pm$ SEM). \* $p$ <0.05 and \*\* $p$ <0.005

### SR14716A and WIN55,212-2 do not affect decision making in the delayed reward paradigm

Stable baseline performance on the delayed reward paradigm occurred after approximately 30 training sessions on a full delay range (0, 10, 20, 40, and 60 s), and therefore, we commenced drug testing from session 35 onwards. A clear, highly significant delay-dependent decrement in the percentage preference for the large reinforcer was observed [Fig. 3; delay:  $F_{4,60}=270.22$   $p$ <0.001]. Nonetheless, SR14716A did not shift the preference for a large reinforcer over delays at any of the tested doses [dose:  $F_{3,45}=1.56$ ,  $p$ =0.21 and dose x delay:  $F_{12,180}=1.24$ ,  $p$ =0.29]. In addition, SR14716A also did not change the total numbers of omitted choice trials, *i.e.*, the failures to start a trial during the choice phase [ $F_{3,45}=3.10$ ,  $p$ =0.052].

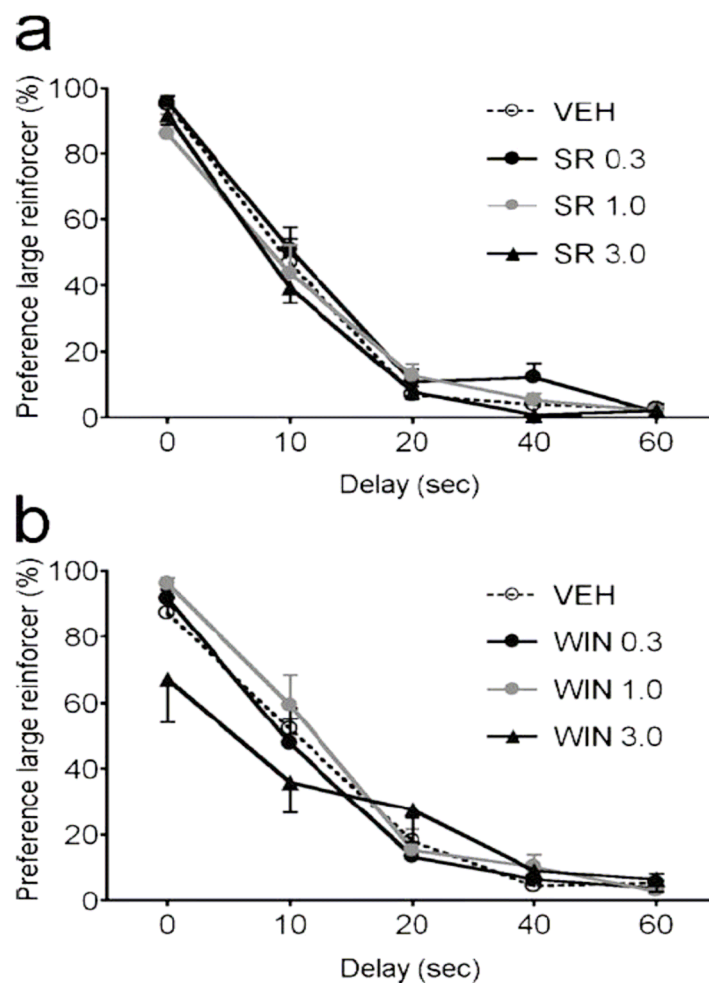


Fig. 3 Effects of SR141716A (a) and WIN55,212-2 (b) on the mean ( $\pm$ SEM) percentage preference for the large reinforcer in the delayed reward paradigm

In the WIN55,212-2 experiments, at the highest dose, in total, five animals omitted all choice trials of some delays, and therefore, were excluded from all analyses of the delay discounting data. Similar to SR141716A, increasing the delay highly significantly shifted the preference from large to the small reinforcer [Fig. 4; delay:  $F_{4,40}=179.06$ ,  $p<0.001$ ]. Although there was no overall effect of WIN55,212-2 on decision making [dose:  $F_{3,30}=0.68$ ,  $p=0.57$ ], there was a dose by delay interaction effect suggesting a shift in preference for the large reinforcer over delays [dose  $\times$  delay:  $F_{12,120}=2.61$ ,  $p=0.011$ ]. Nonetheless, further post hoc

comparisons revealed no differences between vehicle and any of the other doses. The number of omitted choice trials was not affected by WIN55,212-2 [dose:  $F_{3,30}=1.61$ ,  $p=0.21$ ].

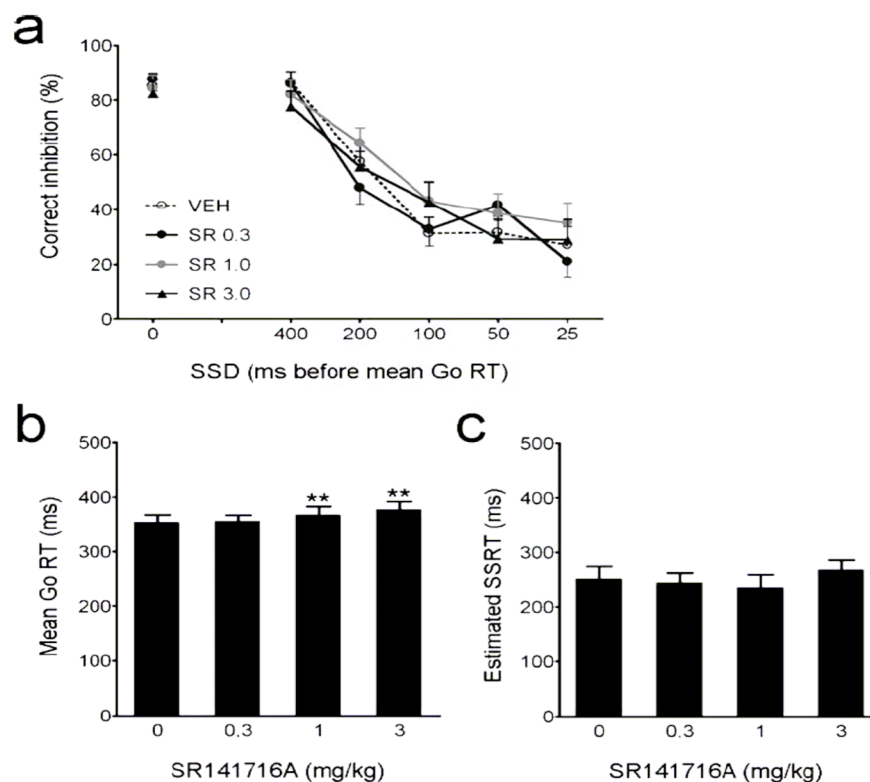


Fig. 4 Effects of SR141716A on response inhibition as measured in the stop-signal paradigm. Data are depicted as mean ( $\pm$ SEM) percentage of correctly inhibited stop trials with varying SSDs before the mean go RT (a), go reaction times (b) and estimated stop signal reaction times from SSDs 200, 100, and 50 ms (c). \*\* $p<0.005$  vs vehicle

### Effects of SR141716A and WIN55,212-2 on response inhibition in the stop-signal paradigm

Under baseline conditions in the stop-signal paradigm, there was stable individual variation in mean reaction times during go trials over consecutive sessions ranging from 290 to 470 ms (mean: 365 ms; standard deviation: 58 ms). Likewise, the limited hold periods during go and stop trials also stably varied and ranged from 400 to 1,100 ms (mean: 594 ms; SD: 167 ms). A highly significant positive correlation indicated that individuals with “shorter” limited hold periods also displayed shorter mean go reaction times compared to individuals with “longer” limited hold periods that were slower in go reaction speed [ $r=0.85$ ,  $p<0.001$ ].

Response inhibition, as displayed in the inhibition function curve in Fig. 4a, was not affected by SR141716A at any of the tested doses [dose:  $F_{3,45}=1.28$ ,  $p=0.29$  and dose $\times$ SSD:  $F_{12,180}=1.25$ ,  $p=0.26$ ]; however, the percentage of correctly inhibited stop trials significantly declined with decreasing stop-signal delays [SSD:  $F_{4,60}=39.24$ ,  $p<0.001$ ]. SR141716A did slow mean reaction times during go trials by approximately 30 ms [Fig. 4b; dose:  $F_{3,45}=7.93$ ,  $p=0.001$ ], and further analyses indicated that both the 1.0 and 3.0 mg/kg dose significantly slowed reaction times compared with vehicle. Nonetheless, the number of omissions during go trials were not significantly affected [mean $\pm$ SEM: vehicle=16.2 $\pm$ 3.0; 0.3 mg/kg=18.1 $\pm$ 1.2; 1.0 mg/kg=17.7 $\pm$ 1.7 and 3.0 mg/kg=23.3 $\pm$ 2.6; dose:  $F_{3,45}=1.76$ ,  $p=0.17$ ]. Lastly, the average estimated SSRT across three stop-signal delays, putatively reflecting response inhibition, was not significantly changed by SR141716A at any dose [Fig. 4c; dose:  $F_{3,45}=1.47$ ,  $p=0.24$ ]. Furthermore, a median split analysis (median SSRT: 238 ms) did not reveal differential effects of SR141716A on the estimated SSRT in individuals with relatively “fast” vs “slow” stopping abilities [slow vs fast stopper:  $F_{1,14}=9.54$ ,  $p=0.008$ ; dose:  $F_{3,42}=1.04$ ,  $p=0.38$  and dose $\times$ slow vs fast stopper:  $F_{3,42}=2.48$ ,  $p=0.074$ ].

In the WIN55,212-2 experiments, at the highest dose, in total, four animals did not start any go trials and were therefore excluded from all stop-signal data analyses. Response inhibition, as displayed in the inhibition function curve in Fig. 5a, was affected by WIN55,212-2 [SSD:  $F_{4,44}=23.51$ ,  $p<0.001$ ; dose:  $F_{3,33}=5.12$ ,  $p=0.005$  and dose $\times$ SSD:



$F_{12,132}=1.11$ ,  $p=0.36$ ], and further comparisons revealed that 0.3 mg/kg WIN55,212-2 significantly deteriorated the percentage of correct inhibition compared to vehicle. Mean reaction times during go trials were slowed by WIN55,212-2 [Fig. 5b; dose:  $F_{3,33}=15.07$ ,  $p<0.001$ ], and further analyses indicated that 1.0 and 3.0 mg/kg WIN55,212-2 significantly slowed mean reaction times compared to vehicle. Nonetheless, the number of omissions during go trials were not significantly affected [mean $\pm$ SEM: vehicle=14.8 $\pm$ 1.9; 0.3 mg/kg=23.2 $\pm$ 4.8; 1.0 mg/kg=26.1 $\pm$ 5.4 and 3.0 mg/kg=34.7 $\pm$ 7.0; dose:  $F_{3,33}=3.06$ ,  $p=0.073$ ]. Lastly, the average estimated SSRT across three stop-signal delays, putatively reflecting response inhibition, was not significantly changed by WIN55,212-2 at any dose [Fig. 5c; dose:  $F_{3,33}=2.06$ ,  $p=0.13$ ]. Furthermore, a median split analysis (median SSRT: 227 ms) did not reveal differential effects of WIN55,212-2 on the estimated SSRT in individuals with relatively “fast” vs “slow” stopping abilities [slow vs fast stopper:  $F_{1,10}=9.57$ ,  $p=0.011$ ; dose:  $F_{3,30}=2.12$ ,  $p=0.12$  and dose $\times$ slow vs fast stopper:  $F_{3,30}=1.30$ ,  $p=0.29$ ].

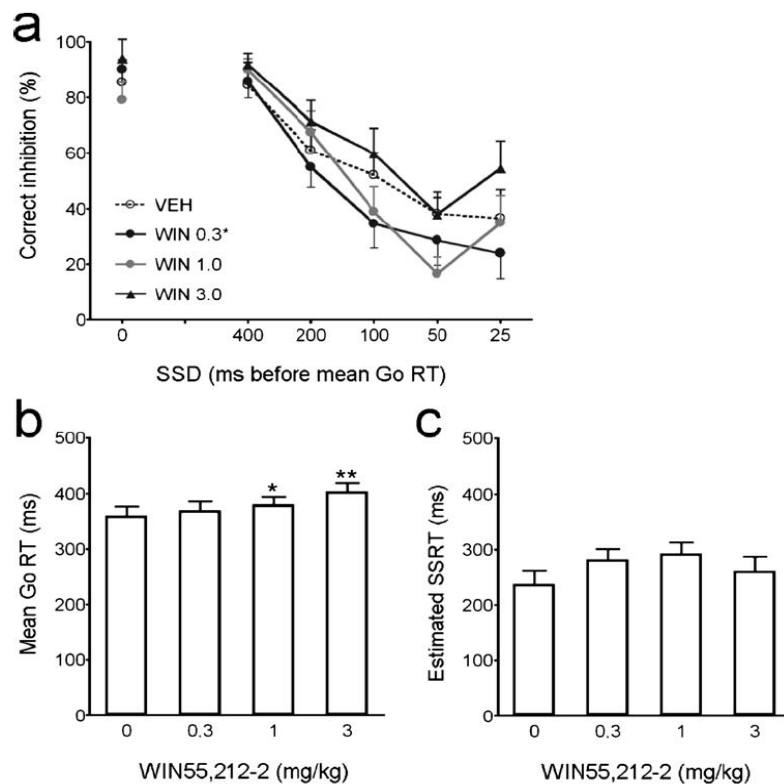


Fig. 5 Effects of WIN55,212-2 on response inhibition as measured in the stop-signal paradigm. Data are depicted as mean ( $\pm$ SEM) percentage of correctly inhibited stop trials with varying SSDs before the mean go reaction times (a), go RTs (b) and estimated stop signal reaction times from SSDs 200, 100, and 50 ms (c). \* $p < 0.05$  and \*\* $p < 0.005$  vs vehicle

## DISCUSSION

To our knowledge, this is the first report demonstrating behavioral effects of a CB<sub>1</sub> receptor agonist and antagonist on independent measures of impulsivity. Thus far, evidence pointing towards cannabinoid involvement in impulsivity mainly originates from studies in which effects of THC or marijuana were tested in human volunteers (Lane et al. 2005; McDonald et al. 2003). Our data obtained in the 5-CSRTT strongly suggest that inhibitory control is modulated by an endogenous cannabinoid tone, as premature responding was dose dependently decreased by SR141716A. This notion is further supported by the observation that in the presence of WIN55,212-2, the effects of 3.0 mg/kg SR141716A on premature responding were no longer observed. Furthermore, the finding that the CB<sub>1</sub> receptor agonist WIN55,212-2, by itself, did not impair inhibitory control by increasing the number of premature responses is in keeping with previous findings (Arguello and Jentsch 2004). It should be noted though, that in the study by Arguello and Jentsch (2004), SR141716A (dose range: 0.1–1.0 mg/kg), by itself, did not change premature responding in a lateralized reaction time task, thereby, contrasting our findings. Nonetheless, differences in baseline performance may have contributed to the discrepancy in findings, as premature responding in well-trained rats in the task by Arguello and Jentsch (2004) was low (approximately 3 per session) compared to premature responding in well-trained rats in the present study (approximately 22 per session). Presumably, a floor effect may have masked the effects of SR141716A on premature responding in the lateralized reaction time task.

Together, our data indicate that performance in the 5-CSRTT is associated with profound occupation of CB<sub>1</sub> receptors by endogenously released cannabinoids. As might then be expected, the endocannabinoid uptake inhibitor AM404 did not affect inhibitory response control in the 5-CSRTT (unpublished data). In contrast to premature responding, perseverative responding after correct choice, a different measure of inhibitory control that putatively reflects compulsive behavior (Robbins 2002), was neither altered upon activation nor blockade of CB<sub>1</sub> receptors. This finding further underscores the dissociation between premature and

perseverative responding in the 5-CSRTT that has been shown to have a neuroanatomical basis as well (Chudasama et al. 2003).

The endocannabinoid system interacts with many other central neurotransmitters systems including the cholinergic, GABAergic, glutamatergic, and opioid systems (Schlicker and Kathmann 2001; Schoffelmeer et al. 2006). Moreover, cannabimimetics have been shown to indirectly modulate the release of dopamine and glutamate in corticostriatal regions (e.g., Cheer et al. 2004; Szabo et al. 1999; Tanda et al. 1997; Xi et al. 2006), most notably in the nucleus accumbens, and particularly, these effects have been linked to the involvement of the cannabinoid system in addiction (for review, see De Vries and Schoffelmeer 2005). Although it is beyond the scope of the present study and additional experiments are required to substantiate this, one might speculate that the present findings are explained by these modulatory effects of the cannabinoid system on mesolimbic dopamine release, as inhibitory control processes in the 5-CSRTT have been shown to depend upon dopamine receptor activation within the nucleus accumbens (Cole and Robbins 1987; Pattij et al. 2007). On the other hand, explanations for the beneficial effects of SR141716A on inhibitory control may be due to the role of the endocannabinoid system in feeding behavior (for review, see Di Marzo and Matias 2005). Accordingly, it has been demonstrated that SR141716A reduces intake of normal and palatable food (e.g., Arnone et al. 1997; Freedland et al. 2000; Thornton-Jones et al. 2005) and the motivation to obtain food (Solinas and Goldberg 2005). Nonetheless, despite these reported effects of SR141716A on food intake, anorexic effects of this compound seem unlikely to explain the current data, as both primary indices of food-motivated behavior in the 5-CSRTT, namely, errors of omission and feeder response latencies, were not changed.

It is interesting to note that we also observed a moderate beneficial effect of SR141716A on visuospatial attention, as it increased the level of accurate choice at 0.3 mg/kg. Likewise, it has been shown that SR141716A improves social recognition and spatial and aversive memory at comparable dose ranges between 0.3 and 3.0 mg/kg (Lichtman 2000; Takahashi et al. 2005; Terranova et al. 1996; Wolff and Leander 2003). Although the mechanisms responsible for the beneficial effects of disrupting endocannabinoid signaling on mnemonic and attentional processes need to be elucidated further, it is interesting to note that

SR141716A increases, among others, cholinergic neurotransmission in the medial prefrontal cortex in vivo (Tzavara et al. 2003). This finding may be particularly relevant for attentional function, as performance in the 5-CSRTT has been shown to be accompanied by increments in acetylcholine release in the medial prefrontal cortex (Passetti et al. 2000), whereas decrements in acetylcholine release in this brain region have been shown to correlate with poor visuospatial attention (McGaughy et al. 2002).

A different measure of impulsivity we studied was impulsive choice in the delayed reward paradigm. Conceptually, impulsive choice differs from inhibitory control in the 5-CSRTT and rather reflects a cognitive decision making process, as rats have to weigh the immediate vs delayed outcomes of their behavior. Impulsive choice then is reflected in insensitivity towards the delayed larger reward and a preference for the small immediate reward. In the present experiments, we observed that neither SR141716A nor WIN55,212-2 did have any effects on impulsive choice. In accordance with these findings, it has been shown recently that THC did not change delay and probability discounting in human volunteers (McDonald et al. 2003), and together, these data suggest that the (endo) cannabinoid system is not critically involved in impulsive choice. Our observations do contrast with previous findings indicating that marijuana elevates risk-taking behavior in volunteers (Lane et al. 2005). Risk taking, however, differs from delay and probability aversion in that it is most likely to occur when the behavioral options may result in losses or have aversive consequences (Rachlin et al. 1986). In the delayed reward paradigm and the paradigm used by McDonald et al. (2003), subjects could only win and not lose reward (food or money, respectively), whereas only the magnitude of the reward depended upon choice. It is therefore possible, that these procedural and conceptual differences explain the discrepancy in findings, and furthermore, that delay aversion and risk-taking processes are differentially regulated by the (endo)cannabinoid system.

While response inhibition has been shown to be impaired in human volunteers after THC administration (McDonald et al. 2003), neither disruption of endocannabinoid signaling nor administration of a CB<sub>1</sub> receptor agonist had clear observable behavioral effects on stop signal task performance. In agreement with the assumption of a “race model” between “go”

and “stop” processes (Logan 1994) and previous stop-signal data in rats (Eagle and Robbins 2003a, b), the probability of successfully inhibiting a response during a stop trial decreased in rats when the onset of the stop signal was delayed in time. Although SR141716A did not shift this inhibition curve as a function of increasing stop-signal delays, the low dose WIN55,212-2 (0.3 mg/kg) significantly deteriorated the ability to inhibit responding with increasing stop-signal delays. However, the primary parameter in this paradigm, the average estimated stop-signal reaction time, or simply put, speed of stopping, was not changed by any dose of SR141716A or WIN55,212-2. In addition, median split analyses revealed no differential drug effects in individuals with “slow” vs “fast” stopping abilities as has been reported previously for the effects of D-amphetamine on stopping speed in both rats and humans (De Wit et al. 2002; Feola et al. 2000). Collectively, our findings suggest that response inhibition processes, as measured in the stop-signal paradigm, are not under control of CB<sub>1</sub> receptors. In the present study, the speed of stopping was estimated from separate SSRTs obtained from three stop-signal delays (200, 100, and 50 ms before mean go RT), and consistent with this estimation method, there was some variability in the SSRTs depending on the delay (Band et al. 2003; Logan 1994), with shorter stop-signal delays resulting in SSRTs of approximately 140 ms and longer delays resulting in SSRTs of approximately 300 ms. However, the variability in SSRTs over delays was similar across all doses of both drugs (data not shown), thus, ruling out the possibility that this variability may have masked effects of SR141716A or WIN55,212-2 on response inhibition. In contrast to the measures of response inhibition, reaction times during performance on go trials were slowed by both compounds in line with their effects in the 5-CSRTT. With regard to these effects of SR141716A, in the absence of changes on omission errors in both the 5-CSRTT and the stop signal paradigm, they cannot be solely interpreted in terms of motor effects. Rather, the minor but significant increase in response latencies of approximately 30 ms in both paradigms (Table 1 and Fig. 4b) may indicate changes in information processing speed induced by blockade of endocannabinoid signaling. However, this notion is not confirmed by previous sensorimotor gating data (Mansbach et al. 1996; Martin et al. 2003). In contrast, the effects of 1.0 and 3.0 mg/kg WIN55,212-2 on reaction times in the stop-signal paradigm may in part be secondary to changes in locomotor activity, as these doses also increased the number of omissions in the 5-CSRTT.

Remarkably, although both the stop-signal paradigm and 5-CSRTT measure aspects of impulsive action, only inhibitory control in the 5-CSRTT was improved by SR141716A. Impulsive action in the latter paradigm is mainly measured as the inability to inhibit inappropriate (premature) responses, whereas in the stop-signal paradigm impulsive action is reflected in the inability to inhibit ongoing behavior, *i.e.*, the inability to stop a behavioral response that has just been initiated. Our observations support the notion of different and separable forms of inhibitory control, and moreover, suggest a differential role for the endocannabinoid system therein. Likewise, lesion studies have suggested that different brain regions are involved in inhibitory control measured in either the 5-CSRTT or stop-signal paradigm, as for instance, lesions of the nucleus accumbens or subregions of the medial prefrontal cortex have been shown to impair inhibitory control in the 5-CSRTT (Christakou et al. 2004; Chudasama et al. 2003; Muir et al. 1996) and not in the stop-signal paradigm (Eagle and Robbins 2003b).

In summary, the present study provides evidence for a differential involvement of the endocannabinoid system in independent measures of impulsivity, as SR141716A primarily affected inhibitory control, and neither impulsive choice nor response inhibition, whereas WIN55,212-2 only slightly affected response inhibition. In this regard, the present data add to existing clinical and preclinical evidence demonstrating that distinct measures of impulsivity can be dissociated at a pharmacological and neuroanatomical level (e.g., Chudasama et al. 2003; De Wit et al. 2002; McDonald et al. 2003; Winstanley et al. 2004). Our findings may be of particular interest with respect to the heterogeneity observed in attention-deficit/hyperactivity disorder (Sonuga-Barke 2002) and suggest that possible novel pharmacotherapies targeted at the cannabinoid system may benefit the subtype resulting from poor inhibitory control, but not the motivational style, or delay aversion, subtype.

## **ACKNOWLEDGEMENTS**

The authors wish to thank Drs. Eco de Geus and Guido Band for their advice on the analysis of the stop-signal data.



## REFERENCES

- American Psychiatric Association (2000) Diagnostic and statistical manual of mental disorders. Fourth Edition, Text Revision. American Psychiatric Association, Washington
- Arguello PA, Jentsch JD (2004) Cannabinoid CB<sub>1</sub> receptor-mediated impairment of visuospatial attention in the rat. *Psychopharmacology* 177:141–150
- Arnone M, Maruani J, Chaperon F, Thiebot MH, Poncelet M, Soubrie P, Le Fur G (1997) Selective inhibition of sucrose and ethanol intake by SR141716, an antagonist of central cannabinoid (CB<sub>1</sub>) receptors. *Psychopharmacology* 132:104–106
- Band GPH, Van der Molen MW, Logan GD (2003) Horse-race model simulations of the stop-signal procedure. *Acta Psychol* 112:105–142
- Barkley RA (1997) Behavioral inhibition, sustained attention, and executive functions: constructing a unifying theory of ADHD. *Psychol Bull* 121:65–94
- Cheer JF, Wassum KM, Heien MLAV, Phillips PEM, Wightman RM (2004) Cannabinoids enhance subsecond dopamine release in the nucleus accumbens of awake rats. *J Neurosci* 24:4393–4400
- Christakou A, Robbins TW, Everitt BJ (2004) Prefrontal cortical–ventral striatal interactions involved in affective modulation of attentional performance: implications for corticostriatal circuit function. *J Neurosci* 24:773–780
- Chudasama Y, Passetti F, Rhodes SEV, Lopian D, Desai A, Robbins TW (2003) Dissociable aspects following lesions of the dorsal anterior cingulate, infralimbic and orbitofrontal cortex in the rat: differential effects on selectivity, impulsivity and compulsivity. *Behav Brain Res* 146:105–119
- Cole BJ, Robbins TW (1987) Amphetamine impairs the discriminative performance of rats with dorsal noradrenergic bundle lesions on a 5-choice serial reaction time task: new evidence for central dopaminergic–noradrenergic interactions. *Psychopharmacology* 91:458–466
- Cravatt BJ, Lichtman AH (2004) The endogenous cannabinoid system and its role in nociceptive behavior. *J Neurobiol* 61:149–160
- D'Ambra TE, Estep KG, Bell MR, Eissenstat MA, Josef KA, Ward SJ, Haycock DA, Baizman ER, Casiano FM, Beglin NC, Chippari SM, Grego JD, Kullnig RK, Daley GT (1992)

Conformationally restrained analogues of pravadoline: nanomolar potent, enantioselective, (aminoalkyl)indole agonists of the cannabinoid receptor. *J Med Chem* 35:124–135

De Vries TJ, Schoffelmeer ANM (2005) Cannabinoid CB<sub>1</sub> receptors control conditioned drug seeking. *Trends Pharmacol Sci* 26:420–426

De Vries TJ, Shaham Y, Homberg J, Crombag H, Schuurman K, Dieben J, Vanderschuren LJM, Schoffelmeer ANM (2001) A cannabinoid mechanism in relapse to cocaine seeking. *Nat Med* 7:1151–1154

De Wit H, Enggasser JL, Richards JB (2002) Acute administration of d-amphetamine decreases impulsivity in healthy volunteers. *Neuropsychopharmacology* 27:813–825

Di Marzo V, Matias I (2005) Endocannabinoid control of food intake and energy balance. *Nat Neurosci* 8:585–589

Eagle DM, Robbins TW (2003a) Inhibitory control in rats performing a stop-signal reaction-time task: effects of lesions of the medial striatum and d-amphetamine. *Behav Neurosci* 117:1302–1317

Eagle DM, Robbins TW (2003b) Lesions of the medial prefrontal cortex or nucleus accumbens core do not impair inhibitory control in rats performing a stop-signal reaction time task. *Behav Brain Res* 146:131–144

Egerton A, Brett RR, Pratt JA (2005) Acute delta9-tetrahydrocannabinol-induced deficits in reversal learning: neural correlates of affective inflexibility. *Neuropsychopharmacology* 30:1895–1905

Egertova M, Elphick MR (2000) Localisation of cannabinoid receptors in the rat brain using antibodies to the intracellular Cterminal tail of CB<sub>1</sub>. *J Comp Neurol* 422:159–171

Evenden JL (1999) Varieties of impulsivity. *Psychopharmacology* 146:348–361

Feola TW, De Wit H, Richards JB (2000) Effects of d-amphetamine and alcohol on a measure of behavioral inhibition in rats. *Behav Neurosci* 114:838–848

Freedland CS, Poston JS, Porrino LJ (2000) Effects of SR141716A, a central cannabinoid receptor antagonist, on food-maintained responding. *Pharmacol Biochem Behav* 67:265–270

Han CJ, Robinson JK (2001) Cannabinoid modulation of time estimation in the rat. *Behav Neurosci* 115:243–246

Hill MN, Froese LM, Morrish AC, Sun JC, Floresco SB (2006) Alterations in behavioral flexibility by cannabinoid CB<sub>1</sub> receptor agonists and antagonists. *Psychopharmacology* 187(2):245–259

Ilan AB, Smith ME, Gevins A (2004) Effects of marijuana on neurophysiological signals of working and episodic memory. *Psychopharmacology* 176:214–222

Jentsch JD, Andrusiak E, Tran A, Bowers MB, Roth RH (1997) Delta9-Tetrahydrocannabinol increases prefrontal cortical catecholaminergic utilization and impairs spatial working memory in the rat: blockade of dopaminergic effects with HA966. *Neuropsychopharmacology* 16:426–432

Lane SD, Cherek DR, Tcheremissine OV, Lieving LM, Pietras CJ (2005) Acute marijuana effects on human risk taking. *Neuropsychopharmacology* 30:800–809

Lichtman AH (2000) SR 141716A enhances spatial memory as assessed in a radial-arm maze task in rats. *Eur J Pharmacol* 404:175–179 Lichtman AH, Varvel SA, Martin BR (2002) Endocannabinoids in cognition and dependence. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 66:269–285

Logan GD (1994) On the ability to inhibit thought and action: a users' guide to the stop signal paradigm. In: Dagenbach D, Carr TH (eds) *Inhibitory processes in attention, memory, and language*. Academic, San Diego, pp 189–239

Mansbach RS, Rovetti CC, Winston EN, Lowe JA (1996) Effects of the cannabinoid CB<sub>1</sub> receptor antagonist SR141716A on the behavior of pigeons and rats. *Psychopharmacology* 124:315–322

Marsicano G, Wotjak CT, Azad SC, Bisogno T, Rammes G, Cascio MG, Hermann H, Tang J, Hofmann C, Zieglgansberger W, Di Marzo V, Lutz B (2002) The endogenous cannabinoid system controls extinction of aversive memories. *Nature* 418:488–489

Martin RS, Secchi RL, Sung E, Lemaire M, Bonhaus DW, Hedley LR, Lowe DA (2003) Effects of cannabinoid receptor ligands on psychosis-relevant behavior models in the rat. *Psychopharmacology* 165:128–135

McDonald J, Schleifer L, Richards JB, de Wit H (2003) Effects of THC on behavioral measures of impulsivity in humans. *Neuropsychopharmacology* 28:1356–1365

McGaughy J, Dalley JW, Morrison CH, Everitt BJ, Robbins TW (2002) Selective behavioral and neurochemical effects of cholinergic lesions produced by intrabasis infusions

of 192 IgG-Saporin on attentional performance in a five-choice serial reaction time task. *J Neurosci* 22:1905–1913

Moeller FG, Barratt ES, Dougherty DM, Schmitz JM, Swann AC (2001) Psychiatric aspects of impulsivity. *Am J Psychiatry* 158:1783–1793

Miller EK, Cohen JD (2001) An integrative theory of prefrontal cortex function. *Annual Rev Neurosci* 24:167–202 Muir JL, Everitt BJ, Robbins TW (1996) The cerebral cortex of the rat and visual attentional function: dissociable effects of mediofrontal, cingulate, anterior dorsolateral, and parietal cortex lesions on a five-choice serial reaction time task. *Cereb Cortex* 6:470–481

Passetti F, Dalley JW, O'Connell MT, Everitt BJ, Robbins TW (2000) Increased acetylcholine release in the rat medial prefrontal cortex during performance of a visual attentional task. *Eur J Neurosci* 12:3051–3058

Pattij T, Janssen MC, Vanderschuren LJ, Schoffelmeer AN, van Gaalen MM (2007) Involvement of dopamine D1 and D2 receptors in the nucleus accumbens core and shell in inhibitory response control. *Psychopharmacology* 191:587–598

Rachlin H, Logue AW, Gibbon J, Frankel M (1986) Cognition and behavior in studies of choice. *Psychol Rev* 93:33–45

Rinaldi-Carmona M, Barth F, Heaulme M, Shire D, Calandra B, Congy C, Martinez S, Maruani J, Neliat G, Caput D, Ferrara P, Soubrie P, Breliere JC, Le Fur G (1994) SR141716A, a potent and selective antagonist of the brain cannabinoid receptor. *FEBS Lett* 350:240–244

Robbins TW (2002) The 5-choice serial reaction time task: behavioural pharmacology and functional neurochemistry. *Psychopharmacology* 163:362–380

Schlicker E, Kathmann M (2001) Modulation of transmitter release via presynaptic cannabinoid receptors. *Trends Pharmacol Sci* 22:565–572

Schoffelmeer ANM, Hogenboom F, Wardeh G, De Vries TJ (2006) Interactions between CB<sub>1</sub> cannabinoid and  $\mu$  opioid receptors mediating inhibition of neurotransmitter release in rat nucleus accumbens core. *Neuropharmacology* 51:773–781

Solanto MV, Abikoff H, Sonuga-Barke E, Schachar R, Logan GD, Wigal T, Hechtman L, Hinshaw S, Turkel E (2001) The ecological validity of delay aversion and response inhibition as measures of impulsivity in AD/HD: a supplement to the NIMH multimodal treatment study of AD/HD. *J Abnorm Child Psychol* 29:215–228

Solinas M, Goldberg SR (2005) Motivational effects of cannabinoids and opioids on food reinforcement depend on simultaneous activation of cannabinoid and opioid systems. *Neuropsychopharmacology* 30:2035–2045

Solowij N, Michie PT, Fox AM (1995) Differential impairment of selective attention due to frequency and duration of cannabis use. *Biol Psychiatry* 37:731–739

Sonuga-Barke EJS (2002) Psychological heterogeneity in AD/HD—a dual pathway model of behaviour and cognition. *Behav Brain Res* 130:29–36

Szabo B, Muller T, Koch H (1999) Effects of cannabinoids on dopamine release in the corpus striatum and the nucleus accumbens in vitro. *J Neurochem* 73:1084–1089

Takahashi RN, Pamplona FA, Fernandes MS (2005) The cannabinoid antagonist SR141716A facilitates memory acquisition and consolidation in the mouse elevated T-maze. *Neurosci Lett* 380:270–275

Tanda G, Pontieri FE, Di Chiara G (1997) Cannabinoid and heroin activation of mesolimbic dopamine transmission by a common  $\mu 1$  opioid receptor mechanism. *Science* 276:2048–2050

Terranova JP, Storme JJ, Lafon N, Perio A, Rinaldi-Carmona M, Le Fur G, Soubrie P (1996) Improvement of memory in rodents by the selective CB<sub>1</sub> cannabinoid antagonist, SR141716. *Psychopharmacology* 126:165–172

Thornton-Jones ZD, Vickers SP, Clifton PG (2005) The cannabinoid CB<sub>1</sub> receptor antagonist SR141716A reduces appetitive and consummatory responses for food. *Psychopharmacology* 179:452–460

Tsou K, Brown S, Sanudo-Pena MC, Mackie K, Walker JM (1998) Immunohistochemical distribution of cannabinoid CB<sub>1</sub> receptors in the rat central nervous system. *Neuroscience* 83:393–411

Tzavara ET, Davis RJ, Perry KW, Li X, Salhoff C, Bymaster FP, Witkin JM, Nomikos GG (2003) The CB<sub>1</sub> receptor antagonist SR141716A selectively increases monoaminergic neurotransmission in the medial prefrontal cortex: implications for therapeutic actions. *Br J Pharmacol* 138:544–553

Van Gaalen MM, Brueggeman RJ, Bronius PFC, Schoffelmeer ANM, Vanderschuren LJMJ (2006a) Behavioral disinhibition requires dopamine receptor activation. *Psychopharmacology* 187:73–85

Van Gaalen MM, Van Koten R, Schoffelmeer ANM, Vanderschuren LJMJ (2006b) Critical involvement of dopaminergic neurotransmission in impulsive decision making. *Biol Psychiatry* 60:66–73

Varvel SA, Anum EA, Lichtman AH (2005) Disruption of CB<sub>1</sub> receptor signaling impairs extinction of spatial memory in mice. *Psychopharmacology* 179:863–872

Verrico CD, Jentsch JD, Roth RH, Taylor JR (2004) Repeated, intermittent delta(9) tetrahydrocannabinol administration to rats impairs acquisition and performance of a test of visuospatial divided attention. *Neuropsychopharmacology* 29:522–529

Winstanley CA, Dalley JW, Theobald DE, Robbins TW (2004) Fractionating impulsivity: contrasting effects of central 5-HT depletion on different measures of impulsive behavior. *Neuropsychopharmacology* 29:1331–1343

Winstanley CA, Eagle DM, Robbins TW (2006) Behavioral models of impulsivity in relation to ADHD: translation between clinical and preclinical studies. *Clin Psychol Rev* 26:379–395

Wolff MC, Leander JD (2003) SR141716A, a cannabinoid CB<sub>1</sub> receptor antagonist, improves memory in a delayed radial arm maze. *Eur J Pharmacol* 477:213–217

Xi ZX, Gilbert JG, Peng XQ, Pak AC, Li X, Gardner EL (2006) Cannabinoid CB<sub>1</sub> receptor antagonist AM251 inhibits cocaineprimed relapse in rats: role of glutamate in the nucleus accumbens. *J Neurosci* 26:8531–8536

## **CAPÍTULO 9**

---

## 9.- DISCUSIÓN INTEGRADORA: TRATAMIENTO DE LA ADICCIÓN A COCAÍNA Y PERSPECTIVAS FUTURAS

Las cifras son elocuentes. Se calcula que existen unos 200 millones de consumidores habituales de drogas en todo el mundo. De estos, 162 millones son consumidores de cannabis y 13 millones de cocaína (UNODC, 2006). Los españoles lideran el ranking europeo en el consumo de cocaína y de cannabis, con cifras de un 2,7% y un 11,3% sobre la población general (de 15 a 64 años), respectivamente (OEDT, 2006). La adicción tanto a cocaína como a cannabis se presenta de esta manera como uno de los problemas más acuciantes de nuestra sociedad actual. Aunque el consumo de cannabis tiende a ralentizarse en los últimos años (período comprendido entre 2005-2006), el cannabis no deja de constituir la droga ilegal más consumida en España. Sin embargo, los indicadores de consumo en el caso de cocaína son alarmantes en España (Caballero Martínez, 2005), ya que tanto el consumo experimental como el esporádico prácticamente se han duplicado desde 1999, y el consumo en el último mes se ha incrementado de un 0,9% hasta el 1,6%. Aproximadamente 474.000 personas de entre 15 y 64 años declaran haber consumido cocaína en el último mes y, de ellas, 350.000 son adultos jóvenes menores de 34 años (PNSD, 2006). Mientras los usuarios de cocaína de fin de semana son más de 100.000, tan sólo 25.000 reciben tratamiento anualmente (de la Fuente *et al*, 2006). El consumo de cocaína en España supera en cinco veces la media europea y nos sitúa a nivel internacional líderes mundiales seguidos de cerca por Estados Unidos. Especialmente preocupante es que una vez iniciado el primer consumo de cocaína, se estima que un 5-6% de usuarios desarrolla dependencia al primer año de consumo, mientras que apenas un 1% de consumidores iniciales de cannabis y alcohol desarrolla dependencia (Wagner y Anthony, 2007).

Es importante resaltar que cerca del 90% de aquellos que han usado una droga ilícita no son adictos (Kandel *et al*, 1992), lo que significa que aproximadamente tan sólo entre el 10-15% de aquellos que inicialmente consumen cocaína intranasalmente se convierten en adictos (Gawin, 1991). Esto nos lleva a plantearnos modelos animales útiles para el estudio del carácter compulsivo, sin control e independiente de las consecuencias aversivas derivadas de la adicción (Herman, 1996) e intentar así responder a cuestiones



vitales sobre los mecanismos que llevan del consumo de drogas a la verdadera adicción, y, como fin último, a su deseada cura (Abbott, 2002). El mayor conocimiento de las bases del aprendizaje (condicionamientos), de los trastornos de la motivación (impulsividad) así como de las emociones (ansiedad, estrés y depresión) se torna crucial para el desarrollo de herramientas terapéuticas efectivas contra la adicción (Cardinal *et al*, 2002).

La cocaína es una de las drogas de abuso que más problemas psicosociobiológicos generan, no solo en términos de su potencial adictivo, sino igualmente al referirnos a daños físicos y cargas sociales (Nutt *et al*, 2007). El fuerte deseo de volver a experimentar los efectos placenteros derivados de la experiencia con cocaína, junto con la necesidad de hacer frente al posterior estado de ánimo negativo, puede conducir al consumo crónico y compulsivo de la droga (Gold y Verebey, 1984). Sin embargo, lo realmente preocupante en la adicción a cocaína es el alto índice de recaídas después de abandonar su consumo durante incluso largos períodos de abstinencia (Dennis *et al*, 2003). La hace sustancialmente compleja el hecho de que los adictos a cocaína por la general tienden a negar su consumo (Gold, 1993).

Hasta la fecha no existe ningún tipo de tratamiento farmacológico aprobado directamente por la FDA (*Food and Drug Administration*) para la adicción a cocaína (O'Brien, 2005). La mayoría de terapias se han centrado en contrarrestar los efectos positivos, reforzantes o euforizantes de las drogas de abuso, aunque otro tipo de terapias, como las que tienen como diana la recaída, la abstinencia o los aspectos compulsivos de la adicción, se muestran más prometedoras (Vanderschuren y Everitt, 2005). Es indudable que la comprensión de cómo los estímulos condicionados adquieren control sobre el comportamiento bajo modelos animales de adicción, así como el estudio de sus bases neurobiológicas, es de crucial importancia para entender los mecanismos básicos de la recaída y futuros tratamientos en la adicción a cocaína (Littleton, 2000). Además, el estudio detallado de la participación que el sistema endocannabinoide ejerce sobre estos procesos, mediante modelos animales como la autoadministración intravenosa, ayudará en su búsqueda y desarrollo (Spealman *et al*, 1999; Maisto y Connors, 2006). Planteamientos tanto éticos como psicofarmacológicos nos llevan a desarrollar modelos animales de recaída que se asemejan lo máximo posible a la recaída en humanos (Tiffany y Conklin, 2002). Es importante resaltar que la mayoría de las recaídas en humanos son producto de la

voluntad del adicto para volver a la autoadministración de cocaína. Evidentemente, en modelos animales de recaída, una de sus limitaciones es que no existe un análogo de una decisión voluntaria para permanecer abstinentes antes de la recaída (Marlatt, 2002).

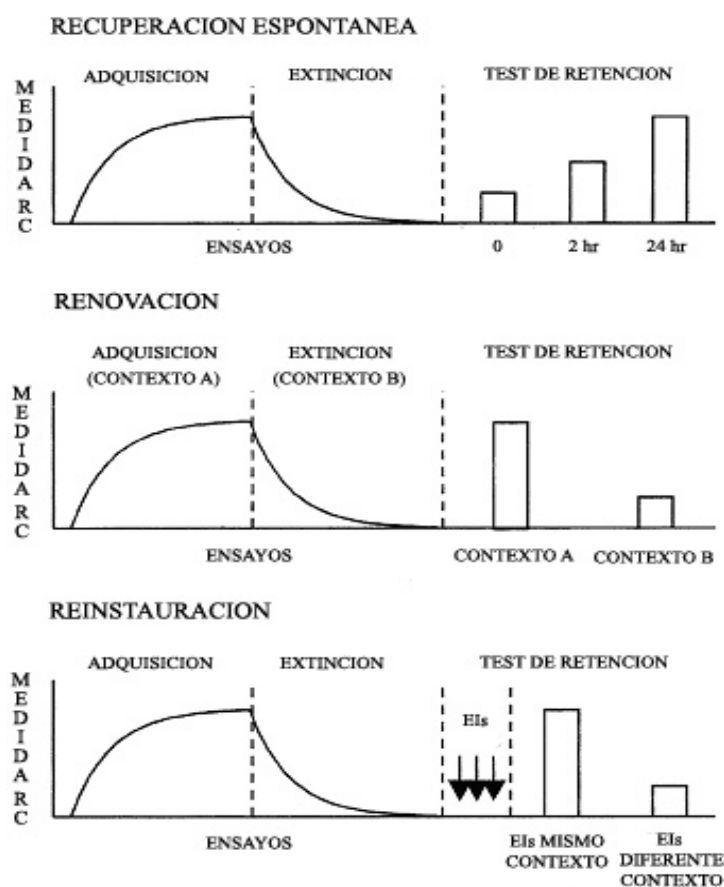
Es más complicado evitar el re-inicio de la adicción que simplemente el paro en el uso de cocaína (O'Brien *et al*, 1998; Shaham y Hope, 2005). Uno de los mayores problemas en la terapéutica de la adicción a cocaína, tras largos períodos de abstinencia, es la recaída producto de la afrenta por estímulos medioambientales asociados con el consumo anterior de cocaína y de profunda resistencia a la extinción (Weiss *et al*, 2001). En este sentido, si las respuestas condicionadas compensatorias aprendidas en virtud de procesos de condicionamiento Pavloviano actúan mediando los estados emocionales negativos de la abstinencia y la recaída, el tratamiento (individual) de la adicción debería centrarse en la extinción de los estímulos condicionados (y consecuentemente, también en estrés y depresión cuando actúan como tales) asociados a la cocaína y desencadenantes de este tipo de respuestas (Siegel, 1981; Poulos *et al*, 1981). Este tipo de tratamiento, por exposición a estímulos ambientales (*cue exposure*) sin la presentación de la droga (Carter y Tiffany, 1999), se cree que pueda conllevar la extinción de las asociaciones clásicamente condicionadas entre los estímulos y los efectos de la cocaína. Sin embargo los resultados en clínica son relativamente desalentadores (Conklin y Tiffany, 2002, pero: Ehrman *et al*, 1998). Si bien, parece ser útil como valoración de la efectividad de los diversos tratamientos en base a su predicción de la recaída (Drummond, 2000) e identificación individualizada de aquellos estímulos que resultan más nocivos para la recaída (Carter y Tiffany, 1999). Hay que tener presente que los emparejamientos de condicionamiento con la droga son un número mayúsculo, y tan sólo en la terapéutica se realizan un número muy limitado de ensayos (West, 2006).

El tratamiento por exposición a estímulos (Franken *et al*, 1999) debería tener en cuenta una serie de factores que pueden ser esenciales en el proceso de extinción y la dificultad para extinguir los estímulos más salientes. Entre ellos, podemos destacar el efecto de recuperación espontánea, de renovación y de reinstauración (Conklin y Tiffany, 2002). Primeramente, la recuperación espontánea tiene lugar cuando las respuestas extinguidas re-aparecen al presentar los estímulos condicionados después de las sesiones del entrenamiento en extinción (Pavlov, 1927). En segundo lugar, el efecto de renovación

tiene lugar cuando se empareja un estímulo condicionado con un estímulo incondicionado (EI) en un contexto (A) y, después de ser extinguido en otro contexto (B), su presentación en el contexto A produce una “renovación” de la respuesta (Bouton, 1994). Aunque la extinción sea en gran medida dependiente del contexto, se ha demostrado que la extinción de estímulos condicionados en múltiples contextos decrece la especificidad contextual de la extinción (Gunther *et al*, 1998; Chelonis *et al*, 1999). En último lugar, la reinstauración implica la re-aparición de la respuesta condicionada tras la presentación única del estímulo incondicionado entre la finalización de la extinción y el consecuente test de retención, pero tan solo si tiene lugar en el contexto del test de retención. El éxito de la terapéutica de la adicción dependerá en gran medida de la inclusión de las implicaciones de los estudios experimentales sobre la extinción en animales de laboratorio. Igualmente, la integración entre la farmacoterapia y la terapia psicológica será crítica (O’Brien *et al*, 1998; Kalivas, 2007).

La exposición a estímulos durante el proceso de extinción debería estar asociado con un adecuado auto-control para evitar la recaída (Hodgson, 1993), debido a que los problemas de impulsividad relacionados con el estado emocional negativo (Gray, 1999; Tice *et al*, 2001) durante la abstinencia a cocaína son un factor serio de vulnerabilidad a una potencial recaída (Tiffany, 1990; Fox *et al*, 2007). En base al solapamiento entre la recaída provocada por estímulos condicionados y estrés (Sinha, 2001; Sinha *et al*, 2000; Weiss, 2005), donde el sistema canabinoide podría jugar un papel relevante, los tratamientos de exposición a estímulos condicionados suelen combinarse con medicamentos ansiolíticos y antidepresivos, con el fin de evitar la ansiedad (Tobena *et al*, 1993).

La motivación de los individuos para autoadministrarse cocaína probablemente recae en dos formas de reforzamiento. La euforia inicial actuaría como estímulo reforzante positivo y explicaría el inicio y el mantenimiento del consumo de cocaína. Por el contrario, el estado disfórico y ansiogénico que acompañaría al consumo de cocaína funcionaría como refuerzo negativo con el fin de mantener su consumo. Estos procesos oponentes podrían dar respuesta al uso combinado de la cocaína con otras drogas, como en el caso específico del cannabis (Ettenberg, 2004).



Las respuestas condicionadas extinguidas pueden re-aparecer bajo una serie de circunstancias, como son la recuperación espontánea, la renovación y la reinstauración (Modificado de Myers y Davis, 2002; Myers y Davis, 2007).

Al analizar los efectos del uso de cannabis en la adherencia al tratamiento y abstinencia en pacientes cocainómanos nos encontramos con resultados interesantes. En aquellos individuos con dependencia a cocaína, el uso de cannabis fue 2,18 veces mayor entre pacientes que volvieron al consumo de cocaína tras un período hospitalario que aquellos que no lo hicieron. De manera similar, pacientes adictos a cocaína que no consiguieron superar un período de remisión (mayor o igual a 26 semanas) consumieron cannabis con mayor probabilidad (1,61 veces más proclives a recaer) que aquellos pacientes que se mantuvieron abstinentes. Finalmente, entre pacientes cocainómanos el uso de cannabis estuvo incrementado 2,96 veces para aquellos que recayeron después de un periodo de abstinencia mayor o igual a 26 semanas, en comparación con aquellos que no recayeron. Sin embargo, según otro estudio del mismo grupo de investigación

(Aharonovich *et al*, 2006), aquellos consumidores moderados/intermitentes de cannabis obtuvieron mejores resultados en la abstinencia a cocaína que el resto de cocainómanos diagnosticados con Trastorno por Déficit de Atención con Hiperactividad (TDAH) y en tratamiento con metilfenidato. A la semana 14, la tasa de adherencia era del 24% entre los no consumidores de cannabis, del 57% entre los usuarios moderados/intermitentes de cannabis y del 39% entre los consumidores abusivos/regulares. Además, el uso de cannabis se asoció con una elevada tasa de abandono del consumo de cocaína. Entre aquellos individuos en el estudio que dijeron consumir cannabis de manera intermitente durante el tratamiento, el 39% alcanzaron dos o más semanas de abstinencia a cocaína comparado con sólo el 26% entre los que manifestaron no haberlo consumido.

El uso de cocaína, al menos en algunos casos, podría considerarse una posible automedicación en pacientes diagnosticados con hiperactividad o trastornos emocionales, como depresión (Khantzian, 1985). En esta misma línea, estudios con animales de experimentación observan una reducción de impulsividad, determinante en la recaída a drogas de abuso como la cocaína, tras la administración de cannabinoides (WIN 55,212-2) en ratas consideradas como un posible modelo de TDAH (Adriani y Laviola, 2004). En general, el consumo de cannabinoides podría reducir, al menos en cierta medida, como sugieren nuestros resultados, el estado afectivo negativo en cocainómanos durante la abstinencia, a su vez, posibilitando una mayor facilitación del auto-control y manejo de los deseos por el consumo de cocaína desencadenado por estímulos condicionados. Sin embargo, hay que reseñar que el tratamiento con agonistas cannabinoides en animales de experimentación podría incrementar el riesgo de recaída a cocaína (De Vries *et al*, 2001). Además, la continuada conducta de búsqueda para la obtención y uso de cannabis podría implicar la exposición, por extensión, a estímulos asociados a cocaína, y de esta manera incrementar el riesgo de recaída a cocaína (Aharonovich *et al*, 2005).

Recientemente, el uso de cannabis ha emergido como potencial herramienta terapéutica en diversas afecciones (Robson, 2005). Con el fin de eliminar o reducir al máximo sus efectivos psicoactivos, se está intentando aislar diversos compuestos cannabinoides. Independientemente de las propiedades ansiolíticas (o ansiogénicas) derivadas del tratamiento con agonistas cannabinoides, sus acciones psicotrópicas son una seria limitación para su uso en la terapéutica (Valverde, 2005). Históricamente hay

ejemplos que nos ponen sobre aviso del error de usar para el tratamiento de una drogodependencia otra droga; por lo general, se termina sustituyendo una adicción por otra (Rosecan y Nunes, 1987). Uno de los casos destacados lo encontramos en Freud, quien defendía, al menos inicialmente, el uso de cocaína en el tratamiento de alcoholismo y la adicción a morfina (Freud, 1884). Por consiguiente, es el bloqueo del sistema cannabinoide el que ofrece un futuro más prometedor.

El primer antagonista del receptor cannabinoide caracterizado farmacológicamente fue el compuesto SR141716A (Acomplia o rimonabant), de la empresa farmacéutica francesa Sanofi-Aventis, el cuál ha sido extensamente investigado (Iversen, 2000). Este compuesto ha sido recientemente aprobado para comercialización en Europa con el fin de combatir la obesidad (Xie *et al*, 2007) y aún se encuentra bajo investigación pre-clínica para el tratamiento del tabaquismo (Tucci *et al*, 2006). Si el bloqueo de los receptores CB<sub>1</sub> no sólo muestra propiedades supresoras de la recaída inducida por estímulos condicionados a nicotina (De Vries *et al*, 2005) sino también extensibles a otras drogas de abuso (De Vries y Schoffelmeer, 2005), rimonabant se presenta como una alternativa terapéutica potencial para el tratamiento de la adicción a cocaína (De Vries *et al*, 2001). Ya que medidas de las propiedades motivacionales de la droga son obtenidas a través de procedimientos de extinción al evaluar la persistencia de la conducta de búsqueda de la droga en ausencia de la disponibilidad de esta (Schuster y Woods, 1968), el hecho de que rimonabant sea capaz de reducir igualmente la extinción del hábito adictivo de la cocaína (datos preliminares de nuestro laboratorio) fortalece la idea del bloqueo del sistema cannabinoide como clave en adicción a cocaína (Comunicación presentada en: *12th Biennial Meeting of the European Behavioural Pharmacology Society*). Un aspecto esencial que deberá tratarse en el futuro es si el compuesto acomplia es capaz de probar su eficacia también en el modelo de extinción-recaída después del tratamiento crónico (Epstein *et al*, 2006). Por último, otro hecho importante que no debería olvidarse es que el antagonista cannabinoide del receptor CB<sub>1</sub> SR 141716A, es en realidad un agonista inverso a ciertas dosis (Landsman *et al*, 1997).

Los cannabinoides están implicados en el control emocional del comportamiento, pero con resultados contradictorios en cuanto a la modulación de la ansiedad, tanto para el caso de agonistas como de antagonistas del sistema cannabinoide. De manera similar

ocurre para otros estados emocionales negativos, como la depresión, donde, nuevamente, es indudable la implicación del sistema cannabinoide (Vinod y Hungund, 2006). Por ejemplo, en humanos, los niveles del receptor CB<sub>1</sub> se muestran elevados en regiones frontales del cerebro de esquizofrénicos (Zavitsanou *et al*, 2004) y en víctimas suicidas bajo depresión (Hungund *et al*, 2004). Sin embargo, estudios en animales nos obligan a ser cautos, ya que se ha encontrado un incremento de la susceptibilidad para un estado anhedónico en ratones carentes del receptor CB<sub>1</sub>, avalado por una mayor sensibilidad a respuestas depresivas (Martin *et al*, 2002). Por otro lado, el hecho de que rimonabant muestre propiedades similares a los antidepresivos (Witkin *et al*, 2005b), los cuales promueven auto-inhibición, reducen el deseo por la droga y disminuyen el consumo de drogas (Hamon, 2002), hace especialmente atractiva esta sustancia para el tratamiento terapéutico en la abstinencia a drogas de abuso. Hay que resaltar, sin embargo, que, tanto ansiedad como depresión, fueron los efectos adversos más frecuentes afectando la retirada en el estudio sobre el tratamiento con rimonabant en pacientes con sobrepeso (Van Gaal *et al*, 2005).

Las emociones son esenciales en la formación de asociaciones condicionadas. Además, los estímulos previamente asociados con la cocaína podrían ser especialmente relevantes para individuos impulsivos, haciendo complicado ignorarlos y promoviendo respuestas de búsqueda de droga ante ellos. Es característica de la adicción una progresiva pérdida del control inhibitorio sobre las asociaciones aprendidas o condicionamientos, llevando consigo un subrayado de los estímulos recordatorios del uso de la droga (McKay *et al*, 2006). En este sentido, si la conducta es fruto del resultado neto de dos sistemas opuestos, uno que activa el comportamiento a través de estructuras límbicas y otro que lo inhibe por medio de estructuras superiores o corticales (Gray, 1976), los estímulos condicionados a drogas, que promueven la recaída por medio de conductas de aproximación-evitación, constituyen una prometedora área de estudio para desentrañar las bases neurocientíficas de la adicción (Fillmore, 2003), donde la elevada resistencia a la extinción del hábito adictivo conduce a la recaída (Tobena *et al*, 1993).

Un factor importante a tener en cuenta en la recaída es el sesgo atencional, el cual se refiere a la tendencia del adicto a centrar su atención a estímulos relacionados con la droga (Ryan, 2002; Ehrman *et al*, 2002). Mecanismos inhibitorios permiten dirigir los

recursos atencionales a los estímulos ambientales relevantes y, por el contrario, reducir la distracción a estímulos ambientales irrelevantes (Tipper, 1985). El sistema cannabinoide, tanto en estudios con humanos como realizados mediante modelos animales, se asocia con determinadas alteraciones de varios procesos cognitivos, como son atención selectiva y sostenida, memoria de trabajo y flexibilidad mental, entre otros (Egerton *et al*, 2006). Aunque la administración de ligandos exógenos del receptor CB<sub>1</sub> altera ciertos tipos de memoria que son dependientes de la integridad del hipocampo (Hill *et al*, 2006), la capacidad de memoria operativa podría no relacionarse con impulsividad (Dellu-Hagedorn, 2006). En cuanto a la modulación de la atención sostenida por parte del sistema cannabinoide, nuestros estudios ponen de manifiesto una ligera mejora de la atención por parte del antagonista del sistema cannabinoide CB<sub>1</sub> rimonabant en la tarea de tiempo de reacción serial de elección cinco, aunque no se observan cambios significativos en atención tras administración aguda del agonista cannabinoide WIN 55,212-2.

De manera similar a como Jentsch y Taylor (1999) han ligado impulsividad a los efectos de los estímulos condicionados a cocaína durante la recaída, Shaham *et al* (2000) hipotetizan que el estrés podría alterar los procesos de control inhibitorio sobre las respuestas pre-potentes al incrementar la resistencia a la extinción de la conducta de búsqueda de cocaína y, a su vez, provocar la recaída. En nuestros estudios, el tratamiento con la dosis más baja del agonista cannabinoide WIN 55,212-2 mostró los niveles más altos de ansiedad en ratas cocainómanas a la vez que mayor resistencia a la extinción y recaída a estímulos condicionados. Por otro lado, en la tarea de la señal de stop está misma dosis (aunque agudamente) incremento la impulsividad motora. Evidentemente, futuros estudios son necesarios para avanzar en nuestro conocimiento a este respecto.

Debido a la elevada impulsividad mostrada en los consumidores de cocaína, la intervención terapéutica sobre sujetos adictos a cocaína debería tener especialmente en cuenta el tratamiento de la impulsividad (Forcada Chapa, 2006). De hecho, impulsividad es considerado por cocainómanos como un factor crítico en la recaída, un 41% lo cita como la primera causa de recaída, mientras que *craving* tan sólo es citado un 7% (Miller y Gold, 1994). El término impulsividad es considerado un constructo multidimensional constando de diferentes dimensiones o factores (Dawe y Loxton, 2004), como ha puesto de manifiesto la disociación psicofarmacológica con la administración de diversos



compuestos cannabinoides y el estudio de sus efectos en diversas pruebas de impulsividad. Destaca especialmente la implicación del sistema cannabinoide en la impulsividad de tipo motor. Importantes implicaciones en el contexto del tratamiento de la obesidad son derivadas de la disminución de la impulsividad ejercida por parte del tratamiento con rimonabant (Nederkoorn *et al*, 2006; Nederkoorn *et al*, 2007). En relación con la adicción a cocaína, resultados preliminares de nuestro laboratorio indican que el antagonista cannabinoide SR 141716 es capaz de reducir el comportamiento impulsivo inducido por cocaína en la tarea denominada *differential reinforcement of low rates of responding*, la cual mide “acción impulsiva” (o desinhibición comportamental) por “respuestas diferidas”. Estos datos sugieren que el bloqueo del sistema cannabinoide podría ser una herramienta terapéutica prometedora en la reducción de la desinhibición comportamental y el tratamiento de la adicción a cocaína (Comunicación presentada en: *37th annual meeting of the Society for Neuroscience*).

---

## **V.- CONCLUSIONS/CONCLUSIONES**

## V.- CONCLUSIONS

If we are to advance not only our knowledge and understanding of the various psychobiological components that underlie the transition from drug intake to addiction, but also the development of new pharmacological agents for the treatment of cocaine addiction, it does turn out to be vital to use animal models that are relevant to the study of cocaine-related behaviors such as compulsion to seek, lack of self-control, and drug-taking regardless of its aversive consequences.

This doctoral thesis has covered a wide range of previously validated behavioral tests for studying the fundamental aspects of addiction. Due to ethical and psychopharmacological issues, animal models (*i.e.* extinction and conditioned reinstatement tests) have been used to develop relapse approximate to that in human addicts. On the other hand, it is becoming increasingly clear that the concept of impulsivity is multifaceted and covers various distinct and independent measures in several operant paradigms such as (1) the five-choice serial reaction time task to measure inhibitory control; (2) the delayed reward paradigm to measure impulsive choice, and (3) the stop-signal paradigm to measure response inhibition. Finally, the consideration of the evaluation of negative emotional states (*e.g.* elevated plus maze) is necessary to have an integrated and well-developed perspective on the study of cocaine addiction.

The results showed that subchronic treatment with the cannabinoid agonist WIN 55,212-2, alters in a biphasic and dose-sensitive fashion, cocaine-seeking behavior in extinction and cue-induced reinstatement tests in association with modulation of anxiety-like behavior. The direction of changes in cocaine-seeking, inversely linked to the direction of changes in anxiety-like behavior as measured on the elevated plus maze, suggests an important role of the endocannabinoid system in the vulnerability to relapse. The anxiolytic effect of subchronic treatment with the highest dose of WIN 55,212-2, only shown in the group with a history of cocaine self-administration, is suggestive of a specific link between the consequences of chronic cocaine exposure and endocannabinoid function in the modulation of susceptibility to anxiety. By contrast, the high resistance to extinction and enhanced reinstatement produced by subchronic treatment with the lowest dose of WIN 55,212-2 suggest that cannabinoid antagonists may prove to offer treatment promise for craving and relapse prevention.

In the five-choice serial reaction time task (5-CSRTT), the CB<sub>1</sub> cannabinoid antagonist SR 141716A dose-dependently improved inhibitory control by decreasing the number of premature responses. Furthermore, SR 141716A slightly improved attentional function and increased correct response latency, but did not affect other parameters. The CB<sub>1</sub> receptor agonist WIN 55,212-2 did not change inhibitory control in the 5-CSRTT and only increased response latencies and errors of omissions. Co-administration of WIN 55,212-2 prevented the effects of SR 141716A on inhibitory control in the 5-CSRTT. Impulsive choice and response inhibition were not affected by SR 141716A at any dose, whereas WIN 55,212-2 slightly impaired response inhibition but did not change impulsive choice.

Cocaine dependence continues to be a serious public health problem worldwide. It is characterized by the compulsive and persistent use and seeking of cocaine, which is often followed by a high relapse rate even after long periods of abstinence. Unfortunately, and in spite of the intense research efforts in basic and clinical science, there are no proven pharmacotherapies for this complex neuropsychiatric disorder at present. Our findings suggest an important role of the cannabinoid system in neuro-cognitive processes underlying cocaine-seeking behavior and impulsive-like behavior, and that its blocking may be a potential therapeutic tool for treating human cocaine abuse. However more studies are needed to further elucidate which neuromechanisms are involved.

## V.- CONCLUSIONES

El uso de modelos animales pertinentes al estudio de la adicción a cocaína en base a su carácter compulsivo, descontrolado e independiente de las consecuencias aversivas, se torna esencial no sólo para dar respuesta a cuestiones vitales sobre los mecanismos psicobiológicos que llevan del mero consumo de drogas a la adicción en toda su extensión, sino también para el desarrollo de una farmacología eficaz en su tratamiento.

Para la realización de esta tesis doctoral se ha utilizado un rango de pruebas comportamentales previamente validadas que abarca sustancialmente los aspectos básicos de la adicción. Planteamientos tanto éticos como psicofarmacológicos nos llevan a desarrollar modelos animales de recaída (*i.e.* tests de extinción y recaída a estímulos condicionados) que se asemejen en un grado máximo a la recaída en adictos humanos, donde los estímulos condicionados previamente a la autoadministración de la droga cobran especial relevancia. Por otro lado, debido a que actualmente el concepto de impulsividad, central al estudio de la drogadicción, cubre medidas distintas e independientes, su estudio puede ser desgranado en varios paradigmas operantes tales como (1) la tarea de tiempo de reacción serial de elección cinco, cuyo fin es la medida de control inhibitorio; (2) la tarea de elección impulsiva, con el fin de estudiar la impulsividad cognitiva, y (3) la tarea de señal de stop, para la medición de inhibición comportamental. Finalmente, la inclusión de la evaluación de los estados de tinte emocional negativo (*e.g.* laberinto elevado en cruz) es necesaria dentro de un marco teórico amplio e integrador de la adicción.

Los resultados muestran que el tratamiento subcrónico con el agonista cannabinoide WIN 55,212-2 es capaz de alterar, de manera bifásica y dosis dependiente, el comportamiento de búsqueda de cocaína en tests de extinción y recaída a estímulos condicionados, al modular los niveles de ansiedad. La dirección de los cambios en la conducta de búsqueda de cocaína, los cuales están inversamente relacionados a aquellos en los niveles de ansiedad observados en la prueba de laberinto elevado en cruz, indica que el sistema endocannabinoide ejerce un papel importante en la vulnerabilidad a la recaída. El efecto ansiolítico en el tratamiento subcrónico con la dosis más alta de WIN 55,212-2, solamente hallado en el grupo con historia de autoadministración de cocaína, sugiere una relación estrecha entre las consecuencias de la administración crónica de cocaína y la función del sistema cannabinoide en la modulación de la susceptibilidad a la ansiedad. Por el contrario, el uso de antagonistas cannabinoides pudiera ser un tratamiento prometedor en

la prevención de recaídas debido al hecho de que el tratamiento con la dosis más baja de WIN 55,212-2 mostró una alta resistencia a la extinción e incremento en la recaída.

En la tarea de tiempo de reacción serial de elección cinco, el antagonista cannabinoide CB<sub>1</sub>, SR 141716A, mejoró, de manera dosis dependiente, el control inhibitorio al disminuir el número de respuestas prematuras. Además, SR 141716A mejoró ligeramente la función atencional e incrementó la latencia de las respuestas correctas, sin modificar otros parámetros. El agonista del receptor CB<sub>1</sub>, WIN 55,-212-2 no modificó el control inhibitorio en la tarea de tiempo de reacción serial de elección cinco y tan sólo incrementó las latencias de respuesta y los errores de omisión. La administración conjunta con WIN 55,212-2 revirtió los efectos de SR 141716A en control inhibitorio en la tarea de tiempo de reacción serial de elección cinco. SR 141716A no alteró ningún parámetro en las tareas de impulsividad cognitiva e inhibición comportamental.

La dependencia a cocaína continua siendo un serio problema de salud a nivel mundial caracterizado por el uso persistente y compulsivo y la conducta de búsqueda de cocaína, la cual está asociada con una elevada tasa de recaída incluso después de largos períodos de abstinencia. Desafortunadamente, a pesar de los intensos esfuerzos realizados en investigación pre-clínica y clínica, no existe actualmente un tratamiento eficaz para este complejo trastorno neuropsiquiátrico. Los hallazgos presentados aquí sugieren que el sistema cannabinoide ejerce una influencia importante sobre la conducta de búsqueda de cocaína y comportamientos impulsivos, y que su bloqueo podría ser una herramienta terapéutica prometedora en el tratamiento de la adicción a cocaína, si bien, serán necesarios más estudios para tener un nivel de conocimiento más profundo y preciso.

## **VI.- BIBLIOGRAFÍA**

---

## VI.- BIBLIOGRAFIA

**A**bbott A (2002). Neuroscience: addicted. *Nature*. 419: 872-874.

Aceto MD, Scates SM, Martin BB (2001). Spontaneous and precipitated withdrawal with a synthetic cannabinoid, WIN 55,212-2. *Eur J Pharmacol*. 416: 75-81.

Adriani W, Laviola G (2004). Windows of vulnerability to psychopathology and therapeutic strategy in the adolescent rodent model. *Behav Pharmacol*. 15: 341-352.

Aharonovich E, Liu X, Samet S, Nunes E, Waxman R, Hasin D (2005). Postdischarge cannabis use and its relationship to cocaine, alcohol, and heroin use: a prospective study. *Am J Psychiatry*. 162: 1507-1514.

Aharonovich E, Garawi F, Bisaga A, Brooks D, Raby WN, Rubin E, Nunes EV, Levin FR (2006). Concurrent cannabis use during treatment for comorbid ADHD and cocaine dependence: effects on outcome. *Am J Drug Alcohol Abuse*. 32: 629-635.

Ahmed SH, Koob GF (1998). Transition from moderate to excessive drug intake: change in hedonic set point. *Science*. 282: 298-300.

Ainslie GW (1974). Impulse control in pigeons. *J Exp Anal Behav*. 21: 485-489.

American Psychiatric Association (2000). Diagnostic and statistical manual of mental disorders. Fourth Edition, Text Revision. American Psychiatric Association, Washington.

Arce E, Santisteban C (2006). Impulsivity: a review. *Psicothema*. 18: 213-220.

Arevalo C, de Miguel R, Hernandez-Tristan R (2001). Cannabinoid effects on anxiety-related behaviours and hypothalamic neurotransmitters. *Pharmacol Biochem Behav*. 70: 123-131.



- Arguello PA, Jentsch JD (2004). Cannabinoid CB1 receptor-mediated impairment of visuospatial attention in the rat. *Psychopharmacology*. 177: 141-150.
- Arnold JC (2005). The role of endocannabinoid transmission in cocaine addiction. *Pharmacol Biochem Behav*. 81: 396-406.
- Arnold JC, Topple AN, Hunt GE, McGregor IS (1998). Effects of pre-exposure and co-administration of the cannabinoid receptor agonist CP55,940 on behavioral sensitization to cocaine. *Eur J Pharmacol*. 354: 9-16.
- Arnone M, Maruani J, Chaperon F, Thiebot MH, Poncelet M, Soubrie P, Le Fur G (1997). Selective inhibition of sucrose and ethanol intake by SR141716, an antagonist of central cannabinoid (CB1) receptors. *Psychopharmacology*. 132: 104-106.
- Auclair N, Otani S, Soubrie P, Crepel F (1999). Cannabinoids modulate synaptic strength and plasticity at glutamatergic synapses of rat prefrontal cortex pyramidal neurons. *J Neurophysiol*. 83: 3287-3293.
- Balerio GN, Aso E, Maldonado R (2006). Role of the cannabinoid system in the effects induced by nicotine on anxiety-like behaviour in mice. *Psychopharmacology*. 184: 504-513.
- Ballesteros-Yanez I, Valverde O, Ledent C, Maldonado R, DeFelipe J (2007). Chronic cocaine treatment alters dendritic arborization in the adult motor cortex through a CB(1) cannabinoid receptor-dependent mechanism. *Neuroscience*. 146: 1536-1545.
- Ballon N, Leroy S, Roy C, Bourdel MC, Charles-Nicolas A, Krebs MO, Poirier MF (2006). (AAT)n repeat in the cannabinoid receptor gene (CNR1): association with cocaine addiction in an African-Caribbean population. *Pharmacogenomics J*. 6: 126-130.
- Band GPH, Van der Molen MW, Logan GD (2003). Horse-race model simulations of the stop-signal procedure. *Acta Psychol*. 112: 105-142.

- Baptista MA, Martin-Fardon R, Weiss F (2004). Preferential effects of the metabotropic glutamate 2/3 receptor agonist LY279268 on conditioned reinstatement versus primary reinforcement: comparison between cocaine and a potent conventional reinforcer. *J Neurosci.* 24: 4723-4727.
- Barkley RA (1997). Behavioral inhibition, sustained attention, and executive functions: constructing a unifying theory of ADHD. *Psychol Bull.* 121: 65-94.
- Barkley RA, Murphy KR, Bush T (2001). Time perception and reproduction in young adults with attention deficit hyperactivity disorder. *Neuropsychology.* 15: 351-360.
- Barratt ES, Patton JH (1983). Impulsivity: cognitive, behavioral, and psychophysiological correlates. En: Zuckerman H (Ed). *Biological bases of sensation seeking, impulsivity and anxiety.* Hillsdale NJ. Erlbaum.
- Baunez C, Robbins TW (1997). Bilateral lesions of the subthalamic nucleus induce multiple deficits in an attentional task in rats. *Eur J Neurosci.* 9: 2086-2099.
- Bechara A, Damasio H, Damasio AR, Lee GP (1999). Different contributions of the human amygdala and ventromedial prefrontal cortex to decision-making. *J Neurosci.* 19: 5473-5481.
- Bechara A, Damasio H, Damasio AR (2000). Emotion, decision making and the orbitofrontal cortex. *Cereb Cortex.* 10: 295-307.
- Bechara A, Dolan S, Denburg N, Hindes A, Anderson SW, Nathan PE (2001). Decision-making deficits, linked to a dysfunctional ventromedial prefrontal cortex, revealed in alcohol and stimulant abusers. *Neuropsychologia.* 39: 376-389.
- Beltramo M, Rodriguez de Fonseca F, Navarro M, Calignano A, Gorriti MA, Grammatikopoulos G, Sadile AG, Giuffrida A, Piomelli D. (2000). Reversal of dopamine D(2) receptors responses by an anandamide transport inhibitor. *J Neurosci.* 20: 3401-3407.

Berke JD, Hyman SE (2000). Addiction, dopamine, and the molecular mechanisms of memory. *Neuron*. 25: 515-532.

Bespalov AY, Zvartau EE, Balster RL, Beardsley PM (2000). Effects of N-methyl-D-aspartate receptor antagonists on reinstatement of cocaine-seeking behavior by priming injections of cocaine or exposures to cocaine-associated cues in rats. *Behav Pharmacol*. 11: 37-44.

Bhattacharaya SK, Chakrabarti A, Sandler M, Glover V (1995). Rat brain monoamine oxidase A and B inhibitory (tribulin) activity during drug withdrawal anxiety. *Neurosci Lett*. 199: 103-106.

Biscaia M, Marin S, Fernandez B, Marco EM, Rubio M, Guaza C, Ambrosio E, Viveros MP (2003). Chronic treatment with CP 55,940 during the peri-adolescent period differentially affects the behavioural responses of male and female rats in adulthood. *Psychopharmacology*. 170: 301-308.

Bizot JC, Thiébot MH (1996). Impulsivity as a confounding factor in certain animal tests of cognitive function. *Cogn Brain Res*. 3: 243-250.

Blanchard DC, Blanchard RJ (1999). Cocaine potentiates defensive behaviours related to fear and anxiety. *Neurosci Biobehav Rev*. 23: 981-991.

Bolla KI, Funderbuck FR, Cadet JL (2000). Differential effects of cocaine and cocaine alcohol on neurocognitive performance. *Neurology*. 54: 2285-2292.

Bortolato M, Campolongo P, Mangieri RA, Scattoni ML, Frau R, Trezza V, La Rana G, Russo R, Calignano A, Gessa GL, Cuomo V, Piomelli D (2006). Anxiolytic-like properties of the anandamide transport inhibitor AM404. *Neuropsychopharmacology*. 31: 2652-2659.

Bossert JM, Ghitza UE, Lu L, Epstein DH, Shaham Y (2005). Neurobiology of relapse to heroin and cocaine seeking: an update and clinical implications. *Eur J Pharmacol*. 526: 36-50.

Bouton ME (1994). Conditioning, remembering, and forgetting. *J Exp Psychol Anim Behav Process.* 20: 219-231.

Braida D, Pozzi M, Parolaro D, Sala M. (2001). Intracerebral self-administration of the cannabinoid receptor agonist CP 55,940 in the rat: interaction with the opioid system. *Eur J Pharmacol.* 413: 227-234.

Braida D, Limonta V, Malabarba L, Zani A, Sala M (2007). 5-HT<sub>1A</sub> receptors are involved in the anxiolytic effect of Delta9-tetrahydrocannabinol and AM 404, the anandamide transport inhibitor, in Sprague-Dawley rats. *Eur J Pharmacol.* 555: 156-163.

Bramblett RD, Panu JA, Ballesteros JA, Reggio PH (1995). Construction of a 3D modelo of the cannabinoid CB<sub>1</sub> receptor: determination of helix ends and helix orientation. *Life Sci.* 56: 1971-1982.

Breiter HC, Gollub RL, Weisskoff RM, Kennedy DN, Makris N, Berke JD, Goodman JM, Kantor HL, Gastfriend DR, Riorden JP, Mathew RT, Rosen BR, Hyman SE (1997). Acute effects of cocaine on human brain activity and emotion. *Neuron.* 19: 591-611.

Breivogel CS, Griffin G, Di Marzo V, Martín BR (2001). Evidence for a new G protein-coupled cannabinoid receptor in mouse brain. *Mol Pharmacol.* 60: 155-163.

Caballero Martinez L (2005). Adicción a la cocaína: neurobiología clínica, diagnóstico y tratamiento. Delegación del Plan Nacional sobre Drogas.

Caberlotto L, Rimondini R, Hansson A, Eriksson S, Heilig M (2004). Corticotropin-releasing hormone (CRH) mRNA expression in rat central amygdala in cannabinoid tolerance and withdrawal: evidence for an allostatic shift?. *Neuropsychopharmacology.* 29: 5-22.

Caille S, Parsons LH (2003). SR141716A reduces the reinforcing properties of heroin but not heroin-induced increases in nucleus accumbens dopamine in rats. *Eur J Neurosci.* 18: 3145-3149.

Caille S, Parsons LH (2006). Cannabinoid modulation of opiate reinforcement through the ventral striatopallidal pathway. *Neuropsychopharmacology*. 31: 804-813.

Caille S, Alvarez-Jaimes L, Polis I, Stouffer DG, Parsons LH (2007). Specific alterations of extracellular endocannabinoid levels in the nucleus accumbens by ethanol, heroin, and cocaine self-administration. *J Neurosci*. 27: 3695-3702.

Calogero AE, Galucci WT, Kling MA, Chrousos GP, Gold PW (1989). Cocaine stimulates rat hypothalamic corticotropin-releasing hormone secretion in vitro. *Brain Res*. 505: 7-11.

Camí J, Farré M (2003). Drug addiction. *New Engl J Med*. 349: 975-986.

Caine SB, Lintz Z, Koob GF (1993). Intravenous drug self-administration techniques in animals. In Sahgal A (ed), *Behavioral neuroscience*. New York, IRL, Oxford UP, pp 117-143.

Cardinal RN, Robbins TW, Everitt BJ (2000). The effects of d-amphetamine, chlordiazepoxide,  $\alpha$ -flupenthixol and behavioural manipulations on choice of signalled and unsignalled delayed reinforcement in rats. *Psychopharmacology*. 152: 362-375.

Cardinal R, Pennicott D, Sugathapala C, Robbins T, Everitt B (2001). Impulsive choice induced in rats by lesions of the nucleus accumbens core. *Science*. 292: 2499-2501.

Cardinal RN, Parkinson JA, Hall J, Everitt BJ (2002). Emotion and motivation: the role of the amygdala, ventral striatum, and prefrontal cortex. *Neurosci Biobehav Rev*. 26: 321-352.

Cardinal RN, Winstanley CA, Robbins TW, Everitt BJ (2004). Limbic corticostriatal systems and delayed reinforcement. *Ann N Y Acad Sci USA*. 1021: 33-50.

Carli M, Robbins TW, Evenden JL, Everitt BJ (1983). Effects of lesions to ascending noradrenergic neurons on performance of a 5-choice serial reaction time task in rats – Implications for theories of dorsal noradrenergic bundle function based on selective attention and arousal. *Behav Brain Res*. 9: 361-380.

Carter BL, Tiffany ST (1999). Meta-analysis of cue-reactivity in addiction research. *Addiction*. 94: 327-340.

Celerier E, Ahdepil T, Wikander H, Berrendero F, Nyberg F, Maldonado R (2006). Influence of the anabolic-androgenic steroid nandrolone on cannabinoid dependence. *Neuropharmacology*. 50: 788-806.

Centonze D, Battista N, Rossi S, Mercuri NB, Finazzi-Agro A, Bernardi G, Calabresi P, Maccarrone M. (2004). A critical interaction between dopamine D2 receptors and endocannabinoids mediates the effects of cocaine on striatal GABAergic transmission. *Neuropsychopharmacology*. 29: 1488-1497.

Centonze D, Rossi S, De Chiara V, Prosperetti C, Battista N, Bernardi G, Mercuri NB, Usiello A, Maccarrone M (2007). Chronic cocaine sensitizes striatal GABAergic synapses to the stimulation of cannabinoid CB1 receptors. *Eur J Neurosci*. 25: 1631-1640.

Chakrabarti A, Ekuta JE, Onaivi ES (1998). Neurobehavioral effects of anandamide and cannabinoid receptor gene expression in mice. *Brain Res Bull*. 45: 67-74.

Chaperon F, Soubrie P, Puech AJ, Thiebot MH (1998). Involvement of central cannabinoid (CB1) receptors in the establishment of place conditioning in rats. *Psychopharmacology*. 135: 324-332.

Chaperon F, Thiebot MH (1999). Behavioral effects of cannabinoid agents in animals. *Crit Rev Neurobiol*. 13: 243-281.

Cheer JF, Wassum KM, Heien MLAV, Phillips PEM, Wightman RM (2004). Cannabinoids enhance subsecond dopamine release in the nucleus accumbens of awake rats. *J Neurosci*. 24: 4393-4400.

Chelonis JJ, Calton JL, Hart JA, Schachtman TR (1999). Attenuation of renewal effect by extinction in multiple contexts. *Learn Motiv*. 30: 1-14.

Chhatwal JP, Ressler KJ (2007). Modulation of fear and anxiety by the endogenous cannabinoid system. *CNS Spectr.* 12: 211-220.

Childress AR, Hole AV, Ehrman RN, Robbins SJ, McLellan AT, O'Brien CP (1993). Cue reactivity and cue reactivity interventions in drug dependence. *NIDA Res Monogr.* 137: 73-95.

Childress AR, Mozley PD, McElgin W, Fitzgerald J, Reivich M, O'Brien CP (1999). Limbic activation during cue-induced cocaine craving. *Am J Psychiatry.* 156: 11-18.

Christakou A, Robbins TW, Everitt BJ (2004). Prefrontal-ventral striatal systems involved in affective modulation of attentional performance: implications for corticostriatal circuitry function. *J Neurosci.* 24: 773-780.

Chudasama Y, Passetti F, Rhodes SEV, Lopian D, Desai A, Robbins TW (2003). Dissociable aspects following lesions of the dorsal anterior cingulate, infralimbic and orbitofrontal cortex in the rat: differential effects on selectivity, impulsivity and compulsivity. *Behav Brain Res.* 146: 105-119.

Ciccocioppo R, Sanna PP, Weiss F (2001). Cocaine-predictive stimulus induces drug-seeking behavior and neural activation in limbic brain regions after multiple months of abstinence: reversal by D(1) antagonists. *Proc Natl Acad Sci USA.* 98: 1976-1981.

Cole BJ, Robbins TW (1987). Amphetamine impairs the discriminative performance of rats with dorsal noradrenergic bundle lesions on a 5-choice serial reaction time task: new evidence for central dopaminergic-noradrenergic interactions. *Psychopharmacology.* 91: 458-466.

Cole BJ, Robbins TW (1989). Effects of 6-hydroxydopamine lesions of the nucleus accumbens septi on performance of a 5-choice serial reaction time task in rats: implications for theories of selective attention and arousal. *Behav Brain Res.* 33: 165-179.

Colombo G, Vacca G, Serra S, Carai MA, Gessa GL (2004). Suppressing effect of the cannabinoid CB1 receptor antagonist, SR 141716, on alcohol's motivational properties in alcohol-preferring rats. *Eur J Pharmacology*. 498: 119-123.

Comings DE, Muhleman D, Gade R, Johnson P, Verde R, Saucier G, MacMurray J (1997). Cannabinoid receptor gene (CNR1): association with i.v. drug use. *Mol Psychiatry*. 2: 161-168.

Comings DE, Gonzalez N, Wu S, Gade R, Muhleman D, Saucier G, Johnson P, Verde R, Rosenthal RJ, Lesieur HR, Rugle LJ, Miller WB, MacMurray JP (1999). Studies of the 48 bp repeat polymorphism of the DRD4 gene in impulsive, compulsive, addictive behaviors: Tourette syndrome, ADHD, pathological gambling, and substance abuse. *Am J Med Genet*. 88: 358-368.

Conklin CA, Tiffany ST (2002). Applying extinction research and theory to cue-exposure addiction treatments. *Addiction*. 97: 155-167.

Cossu G, Ledent C, Fattore L, Imperato A, Bohme GA, Parmentier M, Fratta W (2001). Cannabinoid CB1 receptor knockout mice fail to self-administer morphine but not other drugs of abuse. *Behav Brain Res*. 118: 61-65.

Cota D, Steiner MA, Marsicano G, Cervino C, Herman JP, Grubler Y, Stalla J, Pasquali R, Lutz B, Stalla GK, Pagotto U (2007). Requirement of cannabinoid receptor type 1 for the basal modulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis function. *Endocrinology*. 148: 1574-1581.

Cravatt BJ, Lichtman AH (2004). The endogenous cannabinoid system and its role in nociceptive behavior. *J Neurobiol*. 61: 149-160.

Cruz, AP, Frei, F, Graeff, FG (1994). Ethopharmacological analysis of rat behavior on the elevated plus-maze. *Pharmacol Biochem Behav* 49: 171-176.

Crystal JD, Maxwell KW, Hohmann AG (2003). Cannabinoid modulation of sensitivity to time. *Behav Brain Res*. 144: 57-66.



Dackis CA, Gold MS (1985). New concepts in cocaine addiction: the dopamine depletion hypothesis. *Neurosci Biobehav Rev.* 9: 469-477.

Dalley JW, Lääne K, Peña Y, Theobald DE, Everitt BJ, Robbins TW (2005). Attentional and motivational deficits in rats withdrawn from intravenous self-administration of cocaine or heroin. *Psychopharmacology.* 182: 579-587.

Dalley JW, Fryer TD, Brichard L, Robinson ESJ, Theobald DEH, Lääne K, Peña Y, Murphy ER, Shah Y, Probst K, Abakumova I, Aigbirhio FI, Richards HK, Hong Y, Baron JC, Everitt BJ, Robbins TW (2007). Nucleus accumbens D2/3 receptors predict trait impulsivity and cocaine reinforcement. *Science.* 315: 1267-1270.

Dawe S, Loxton NJ (2004). The role of impulsivity in the development of substance use and eating disorders. *Neurosci Biobehav Rev.* 28: 343-351.

DAWN Annual Medical Examiner Data (1996). En: DAWN Series D-4, DHHS Publication No. (SMA), 98-3228, p. 35. Rockville, MD: Public Health Service: Substance Abuse and Mental Health Services Administration, 1998.

Dawson GR, Tricklebank MD (1995). Use of elevated plus-maze in the search for novel anxiolytic agents. *Trends Pharmacol Sci.* 16: 33-36.

de la Fuente L, Brugal MT, Domingo-Salvany A, Bravo MJ, Neira-Leon M, Barrio G (2006). More than thirty years of illicit drugs in Spain: a bitter story with some messages for the future. *Rev Esp Salud Publica* 80: 505-520.

De Petrocellis L, Cascio MG, Di Marzo V (2004). The endocannabinoid system: a general view and latest additions. *Br J Pharmacol.* 141: 765-774.

De Vries TJ, Shaham Y, Homberg JR, Crombag H, Schuurman K, Dieben J, Vanderschuren L, Schoffelmeer ANM (2001). A cannabinoid mechanism in relapse to cocaine seeking. *Nat Med.* 7: 1151-1154.

De Vries TJ, Schoffeleers ANM (2005). Cannabinoid CB1 receptors control conditioned drug seeking. *Trends Pharmacol Sci.* 26: 420-426.

De Vries TJ, de Vries W, Janssen MC, Schoffeleers AN (2005). Suppression of conditioned nicotine and sucrose seeking by the cannabinoid-1 receptor antagonist SR141716A. *Behav Brain Res.* 161: 164-168.

de Wit H, Stewart J (1981). Drug reinstatement of cocaine-reinforced responding in the rat. *Psychopharmacology.* 75: 134-143.

de Wit H, Crean J, Richards JB (2000). Effects of d-amphetamine and ethanol on a measure of behavioural inhibition in humans. *Behavioral Neuroscience.* 114: 830-837.

de Wit H, Enggasser MA, Richards JB (2002). Acute administration of d-amphetamine decreases impulsivity in healthy volunteers. *Neuropsychopharmacology.* 27: 813-825.

de Wit H, Richards JB (2004). Dual determinants of drug use in humans: reward and impulsivity. *Nebr Symp Motiv.* 50: 19-55.

Degenhardt L, Hall W (2001). The relationship between cannabis use and other substance use in the general population. *Drug Alcohol Depend.* 64: 319-327.

Degroot A, Nomikos GG (2007). *In vivo* neurochemical effects induced by changes in endocannabinoid neurotransmission. *Curr Opin Pharmacol.* 7: 1-7.

Dellu-Hagedorn F (2006). Relationship between impulsivity, hyperactivity and working memory: a differential analysis in the rat. *Behav Brain Funct.* 2: 10.

Deneau G, Yangita T, Seevers MH (1969). Self-administration of psychoactive substances by the monkey: a measure of psychological dependence. *Psychopharmacologia.* 16: 30-48.

Dennis ML, Scott CK, Funk R (2003). An experimental evaluation of recovery management checkups (RMC) for people with chronic substance use disorders. *Eval Program Plann.* 26: 339-352.

Deroche-Gamonet V, Le Moal M, Piazza PV, Soubrie P (2001). SR141716, a central cannabinoid (CB1) receptor antagonist, decreases the sensitivity to the reinforcing effects of electrical brain stimulation in rats. *Psychopharmacology*. 157: 254-259.

DeSouza EB, Insel TR, Perrin MH, Rivier J, Vale WW, Kuhar MJ (1985). Corticotropin-releasing factor receptors are widely distributed within the rat central nervous system: an autoradiographic study. *J Neurosci*. 5: 3189-3203.

DeVries AC, Pert A (1998). Conditioned increases in anxiogenic-like behavior following exposure to contextual stimuli associated with cocaine are mediated by corticotropin-releasing factor. *Psychopharmacology* 137: 333-340.

DeVries AC, Taymans SE, Sundstrom JM, Pert A (1998). Conditioned release of corticosterone by contextual stimuli associated with cocaine are mediated by corticotropin-releasing factor. *Brain Res*. 786: 39-46.

Dewey WL (1986). Cannabinoid pharmacology. *Pharmacol Rev*. 38: 151-178.

Di S, Malcher-Lopes R, Halmos KC, Tasker JG (2003). Nongenomic glucocorticoid inhibition via endocannabinoid release in the hypothalamus: a fast feedback mechanism. *J Neurosci*. 23: 4850-4857.

Di Ciano P, Coury A, Depoortere RY, Egilmez Y, Lane JD, Emmett-Oglesby MW, Lepiane FG, Phillips AG, Blaha CD (1995). Comparison of changes in extracellular dopamine concentrations in the nucleus accumbens during intravenous self-administration of cocaine or d-amphetamine. *Behav Pharmacol*. 6: 311-322.

Di Mazro V, Fontana A, Cadas H, Schinelli S, Cimino G, Schwartz JC, Piomelli D (1994). Formation and inactivation of endogenous cannabinoid anandamide in central neurons. *Nature*. 372: 686-691.

Di Marzo V, Bisogno T, De Petrocellis L (2001). Anandamide: some like it hot. *Trends Pharmacol Sci*. 22: 346-349.

Di Marzo V, Bifulco M, De Petrocellis L (2004). The endocannabinoid system and its therapeutic exploitation. *Nat Rev Drug Discov.* 3: 771-784.

Di Marzo V, Matias I (2005). Endocannabinoid control of food intake and energy balance. *Nat Neurosci.* 8: 585-589.

Dinh TP, Kathuria S, Piomelli D (2004). RNA interference suggests a primary role for monoacylglycerol lipase in the degradation of the endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol. *Mol Pharmacol.* 66: 1260-1264.

Drummond DC (2000). What does cue-reactivity have to offer clinical research?. *Addiction.* 95 (S2): S129-S144.

Drysdale AJ, Platt B (2003). Cannabinoids: mechanisms and therapeutic applications in the CNS. *Curr Med Chem.* 50: 621-631.

DSM-IV (1994). American Psychiatry Association, Committee on Nomenclature and Statistics: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. 4<sup>th</sup> edition. Washington, DC, American Psychiatric Press.

Eagle DM, Robbins TW (2003a). Inhibitory control in rats performing a stop-signal reaction-time task: effects of lesions of the medial striatum and d-amphetamine. *Behav Neurosci.* 117: 1302-1317.

Eagle DM, Robbins TW (2003b). Lesions of the medial prefrontal cortex or nucleus accumbens core do not impair inhibitory control in rats performing a stop-signal reaction time task. *Behav Brain Res.* 146: 131-144.

Eagle DM, Baunez C, Hutcheson DM, Lehmann O, Shah AP, Robbins TW (2007). Stop-signal reaction-time task performance: role of prefrontal cortex and subthalamic nucleus. *Cereb Cortex.* 18: 178-188.

Earley PH (1991). The cocaine recovery book. London. Sage.

Egerton A, Brett RR, Pratt JA (2005). Acute delta9-tetrahydrocannabinol-induced deficits in reversal learning: neural correlates of affective inflexibility. *Neuropsychopharmacology*. 30: 1895-1905.

Egerton A, Allison C, Brett RR, Pratt JA (2006). Cannabinoids and prefrontal cortical function: insights from preclinical studies. *Neurosci Biobehav Rev*. 30: 680-695.

Egertova M, Elphick MR (2000). Localisation of cannabinoid receptors in the rat brain using antibodies to the intracellular C-terminal tail of CB. *J Comp Neurol*. 422: 159-171.

Ehrman RN, Robbins SJ, Childress AR, Goehl L, Hole AV, O'Brien CP (1998). Laboratory exposure to cocaine cues does not increase cocaine use by outpatient subjects. *J Subst Abuse Treat*. 15: 431-435.

Ehrman RN, Robbins SJ, Bromwell MA, Langford ME, Monterosso JR, O'Brien (2002). Comparing attentional bias to smoking cues in current smokers, former smokers, and non-smokers using a dot-probe task. *Drug Alcohol Depend*. 26: 339-352.

Epstein DH, Preston KL, Stewart J, Shaham Y (2006). Toward a model of drug relapse: an assessment of the validity of the reinstatement procedure. *Psychopharmacology*. 189: 1-16.

Ernst M, London ED (1997). Brain imaging studies of drug abuse: therapeutic implications. *Semin Neurosci*. 9: 120-130.

Ettenberg A (2004). Opponent process properties of self-administered cocaine. *Neurosci Biobehav Rev*. 27: 721-728.

Ettenberg A, Geist TD (1991). Animal model for investigating the anxiogenic effects of self-administered cocaine. *Psychopharmacology*. 103: 455-461.

Evenden JL (1999). Varieties of impulsivity. *Psychopharmacology*. 146: 348-361.

Evernden JL, Ryan CN (1996). The pharmacology of impulsive behaviour in rats: the effects of drugs on response choice with varying delays of reinforcement. *Psychopharmacology*. 128: 161-170.

Everitt BJ, Parkinson JA, Olmstead MC, Arroyo M, Robledo P, Robbins TW (1999). Associative processes in addiction and reward. The role of amygdala-ventral striatal subsystems. *Ann N Y Acad Sci USA*. 877: 412-438.

Everitt BJ, Wolf ME (2002). "Psychomotor stimulant addiction: a neural systems perspective". *J Neurosci*. 22: 3312-3320.

Fattore L, Martellota MC, Cossu G, Mascia MS, Fratta W (1999). CB1 cannabinoid receptor agonist WIN55,212-2 decreases intravenous cocaine self-administration in rats. *Behav Brain Res*. 104: 141-148.

Fattore L, Cossu G, Martellotta CM, Fratta W (2001). Intravenous self-administration of the cannabinoid CB1 receptor agonist WIN 55,212-2 in rats. *Psychopharmacology*. 156: 410-6.

Fattore L, Spano MS, Deiana S, Melis V, Cossu G, Fadda P, Fratta W (2006). An endocannabinoid mechanism in relapse to drug seeking: a review of animal studies and clinical perspectives. *Brain Res Rev*. 53: 1-16.

Fedorova I, Hashimoto A, Fecik RA, Hedrick MP, Hanus LO, Boger DL, Rice KC, Basile AS (2001). Behavioral evidence for the interaction of oleamide with multiple neurotransmitter systems. *J Pharmacol Exp Ther*. 299: 332-342.

Feltenstein MW, See RE (2006). Potentiation of cue-induced reinstatement of cocaine-seeking in rats by the anxiogenic drug yohimbine. *Behav Brain Res*. 174: 1-8.

Feola TW, de Witt H, Richards JB (2000). Effects of d-amphetamine and alcohol on a measure of behavioral inhibition in rats. *Behav Neurosci*. 114: 838-848.

Fergusson DM, Horwood LJ (2000). Does cannabis use encourage other forms of illicit drug use?. *Addiction*. 95: 505-520.

Ferrari F, Ottani A, Giuliani D (1999). Influence of the cannabinoid agonist HU 210 on cocaine- and CQP 201–403-induced behavioural effects in rat. *Life Sci*. 65: 823–831.

Filip M, Frankowska M, Zaniowska M, Golda A, Przegalinski E (2005). The serotonergic system and its role in cocaine addiction. *Pharmacol Rep*. 57: 685-700.

Filip M, Golda A, Zaniowska M, McCreary AC, Nowak E, Kolasiewicz W, Przegalinski E (2006). Involvement of cannabinoid CB1 receptors in drugs addiction: effects of rimonabant on behavioral responses induced by cocaine. *Pharmacol Rep*. 58: 806-819.

Fillmore MT (2003). Drug abuse as a problem of impaired control: current approaches and findings. *Behav Cogn Neurosci Rev*. 5: 191-239.

Fillmore MT, Rush CR (2002). Impaired inhibitory control of behavior in chronic cocaine users. *Drug Alcohol Depend*. 66: 265-273.

Fillmore MT, Rush CR, Hays L (2002). Acute effects of oral cocaine on inhibitory control of behavior in humans. *Drug Alcohol Depend*. 67: 157-167.

Fillmore MT, Rush CR, Hays L (2005). Cocaine improves inhibitory control in a human model of response conflict. *Exp Clin Psychopharmacol*. 13: 327-335.

Fillmore MT, Rush CR, Hays L (2006). Acute effects of cocaine in two models of inhibitory control: implications of non-linear dose effects. *Addiction*. 1323-1332.

Foltin RW, Fischman MW, Phippen PA, Kelly TH (1993). Behavioral effects of cocaine alone and in combination with ethanol or marijuana in humans. *Drug Alcohol Depend*. 32: 93–106.

Foltin RW, Haney M (2000). Conditioned effects of environmental stimuli paired with smoked cocaine in humans. *Psychopharmacology*. 149: 24-33.

Forcada Chapa R, Pardo Pavía N, Bondía Soler, B (2006). Impulsividad en dependientes de cocaína que abandonan el consumo. *Addiciones*. 18: 111-118.

Fox HC, Axelrod SR, Paliwal P, Sleeper J, Sinha R (2007). Difficulties in emotion regulation and impulse control during cocaine abstinence. *Drug Alcohol Depend.* 89: 298-301.

Franken IH, de Haan HA, van der Meer CW, Haffmans PM, Hendriks VM (1999). Cue reactivity and effects of cue exposure in abstinent posttreatment drug users. *J Subst Abuse Treat.* 16: 81-85.

Freedland CS, Poston JS, Porrino LJ (2000). Effects of SR141716A, a central cannabinoid receptor antagonist, on food-maintained responding. *Pharmacol Biochem Behav.* 67: 265-270.

Freedland CS, Sharpe AL, Samson HH, Porrino LJ (2001). Effects of SR 141716A on ethanol and sucrose self-administration. *Alcohol Clin Exp Res.* 25: 277-282.

Freud S (1885). Contribution to the knowledge of the effect of cocaine. *Wien Med Wochenschr.* 35: 129-133.

Freund TF, Katona I, Piomelli D (2003). Role of endogenous cannabinoids in synaptic signaling. *Physiol Rev.* 83: 1017-1066.

Friedman ES, Clark DB, Gershon S (1992). Stress, anxiety, and depression: review of biological, diagnostic, and nosological issues. *J Anxiety Disord.* 6: 337-363.

Fuchs RA, Evans KA, Parker MC, See RE (2004). Differential involvement of the core and shell subregions of the nucleus accumbens in conditioned cue-induced reinstatement of cocaine seeking in rats. *Psychopharmacology.* 176: 459-465.

Fuchs RA, Branham RK, See RE (2006). Different neural substrates mediate cocaine seeking after abstinence versus extinction training: a critical role for the dorsolateral caudate-putamen. *J Neurosci.* 26: 3584-3588.



Gallate JE, McGregor IS (1999). The motivation for beer in rats: effects of ritanserin, naloxone and SR 141716. *Psychopharmacology*. 142: 302-308.

Gaoni Y, Mechoulam R (1964). Isolation, structure and partial synthesis of an active constituent of hashish. *J Am Chem Soc*. 86: 1646-1647.

Gardner EL (2000). What we have learned about addiction from animal models of drug self-administration. *Am J Addict*. 9: 285-313.

Gardner EL, Lowinson JH (1991). Marijuana's interaction with brain reward systems: update. *Pharmacol Biochem Behav*. 40: 571-580.

Gardner EL, Vorel SR (1998). Cannabinoid transmission and reward-related events. *Neurobiol Dis*. 5: 502-533.

Gawin FH (1991). Cocaine addiction: psychology and neurophysiology. *Science*. 251: 1580-1586.

Gawin FH, Kleber HD (1986). Abstinence symptomatology and psychiatric diagnosis in cocaine abusers: Clinical observations. *Arch Gen Psychiatry*. 43: 107-113.

Genn RF, Tucci S, Marco E, Viveros MP, File SE (2003). Anxiolytic and anxiogenic effects of the cannabinoid agonist CP 55,940 in animal tests of anxiety. *J Psychopharmacol*. 17: A27.

Gerdeman GL, Lovinger DM (2003). Emerging roles for endocannabinoids in long-term synaptic plasticity. *Br J Pharmacol*. 140: 781-789.

Ghitza UE, Fabbriatore AT, Prokopenko V, Pawlak, AP, West MO (2003). Persistent cue-evoked activity of accumbens neurons after prolonged abstinence from self-administered cocaine. *J Neurosci*. 23: 7239-7245.

Giuffrida A, Parsons LH, Kerr TM, Rodriguez de Fonseca F, Navarro M, Piomelli D (1999). Dopamine activation of endogenous cannabinoid signaling in dorsal striatum. *Nat Neurosci.* 2: 303-304.

Giuliani D, Ferrari F, Ottani A (2000). The cannabinoid agonist HU-210 modifies rat behavioural responses to novelty and stress. *Pharmacol Res.* 41: 47-53.

Glass M, Dragunow M, Faull RLM (1997). Cannabinoid receptors in the human brain: a detailed anatomical and quantitative autoradiographic study in the fetal, neonatal and adult human brain. *Neuroscience.* 77: 299-318.

Goeders NE (2002). Stress and cocaine addiction. *J Pharmacol Exp Ther.* 301: 785-789.

Goeders NE, Clampitt DM (2002). Potential role for the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in the conditioned reinforcer-induced reinstatement of extinguished cocaine seeking in rats. *Psychopharmacology.* 161: 222-232.

Gold MS, Verebey K (1984). The psychopharmacology of cocaine. *Psychiatric Ann.* 14: 714-723.

Gold MS (1993). Cocaine. New York. Plenum Press.

Goldberg SR, Kelleher RT, Morse WH (1975). Second-order schedules of drug injection. *Fed Proc.* 34: 1771-1776.

Goldstein RZ, Volkow ND (2002). Drug addiction and its underlying neurobiological basis: neuroimaging evidence for the involvement of the frontal cortex. *Am J Psychiatry.* 159: 1642-1652.

González S, Fernández-Ruiz J, Sparpaglione V, Parolaro D, Ramos JA (2002a). Chronic exposure to morphine, cocaine or ethanol in rats produced different effects in brain cannabinoid CB1 receptor binding and mRNA levels. *Drug Alcohol Depend.* 66: 77-84.

González S, Cascio MG, Fernández-Ruíz J, Fezza F, Di Marzo V, Ramos JA (2002b). Changes in endocannabinoid contents in the brain of rats chronically exposed to nicotine, ethanol or cocaine. *Brain Res.* 954: 73-81.

Goudie AJ (1991). Animal models of drug abuse and dependence. En: Willner P, *Behavioural models in psychopharmacology: theoretical, industrial and clinical perspectives*. Cambridge (UK), Cambridge University Press.

Gray JA (1976). The behavioral inhibition system: a possible substrate for anxiety. En: Feldman MP, Broadhurst A: *Theoretical and experimental bases of the behavior therapies*. London. Wiley.

Gray JA (1999). A bias toward short-term thinking in threat-related negative emotional states. *Pers Soc Psychol Bull.* 25: 65-75.

Griebel G, Stemmelin J, Scatton B (2005). Effects of the cannabinoid CB1 receptor antagonist rimonabant in models of emotional reactivity in rodents. *Biol Psychiatry.* 57: 261-267.

Griffiths RR, Balster RL (1979). Opioids: similarity between evaluations of subjective effects and animal self-administration results. *Clin Pharmacol Ther.* 25: 611-617.

Grimm JW, Hope BT, Wise R, Shaham Y (2001). Neuroadaptation: incubation of cocaine craving after withdrawal. *Nature.* 412: 141-142.

Groenewegen HJ, Berendse HW, Wolters JG, Lohman AH (1990). The anatomical relationship of the prefrontal cortex with striatopallidal system, the thalamus and the amygdala: evidence for a parallel organization. *Prog Brain Res.* 85: 95-116.

Guimaraes FS, Chiaretti TM, Graeff FG, Zuardi AW (1990). Antianxiety effect of cannabidiol in the elevated plus-maze. *Psychopharmacology.* 100: 558-559.

Gulyas AI, Cravatt BF, Bracey MH, Dinh TP, Piomelli D, Boscia F, Freund TF (2004). Segregation of two endocannabinoid-hydrolyzing enzymes into pre- and postsynaptic

compartments in the rat hippocampus, cerebellum and amygdala. *Eur J Neurosci.* 20: 441-458.

Gunther LM, Denniston JC, Miller RR (1998). Conducting exposure treatment in multiple contexts can prevent relapse. *Behav Res Ther.* 36: 75-91.

Hajos N, Ledent C, Freund TF (2001). Novel cannabinoid sensitive receptor mediates inhibition of glutamatergic synaptic transmission in the hippocampus. *Neuroscience.* 106: 1-4.

Haller J, Bakos N, Szirmay M, Ledent C, Freund TF (2002). The effects of genetic and pharmacological blockade of the CB1 cannabinoid receptor on anxiety. *Eur J Neurosci.* 16: 1395-1398.

Haller J, Varga B, Ledent C, Freund TF (2004a). CB1 cannabinoid receptors mediate anxiolytic effects: convergent genetic and pharmacological evidence with CB1-specific agents. *Behav Pharmacol.* 15: 299-304.

Haller J, Varga B, Ledent C, Barna I, Freund TF (2004b). Context-dependent effects of CB1 cannabinoid gene disruption on anxiety-like and social behaviour in mice. *Eur J Neurosci.* 19: 1906-1912.

Haller J, Matyas F, Soproni K, Varga B, Barsy B, Nemeth B, Mikics E, Freund TF, Hajos N (2007). Correlated species differences in the effects of cannabinoid ligands on anxiety and on GABAergic and glutamatergic synaptic transmission. *Eur J Neurosci.* 25: 2445-2456.

Hallikainen T, Saito T, Lachman HM, Volavka J, Pohjalainen T, Ryyanen OP, Kauhanen J, Syvalahti E, Hietala J, Tiihonen J (1999). Association between low activity serotonin transporter promoter genotype and early onset alcoholism with habitual impulsive violent behavior. *Mol Psychiatry.* 4: 385-388.

Hamon M (2002). Neurobiological mechanism of dependence: implication of serotonin. *Bull Acad Natl Med.* 186: 307-317.

Han CJ, Robinson JK (2001). Cannabinoid modulation of time estimation in the rat. *Behav Neurosci.* 115: 243-246.

Harris, GC, Wimmer, M, Aston-Jones, G (2005). A role for lateral hypothalamic orexin neurons in reward seeking. *Nature.* 437: 556-559.

Harro J, Vasar E, Bradwejn J (1993). CCK in animal and human research on anxiety. *Trends Pharmacol Sci.* 14: 244-249.

Hashimotodani Y, Ohno-Shosaku T, Kano M (2007). Endocannabinoids and synaptic function in the CNS. *Neuroscientist.* 13: 127-137.

Hayase T, Yamamoto Y, Yamamoto K (2005). Persistent anxiogenic effects of a single or repeated doses of cocaine and methamphetamine: interactions with endogenous cannabinoid receptor ligands. *Behav Pharmacol.* 16: 395-404.

Heil SH, Johnson MW, Higgins ST, Bickel WK (2006). Delay discounting in currently using and currently abstinent cocaine-dependent outpatients and non-drug-using matched controls. *Addict Behav.* 31: 1290-1294.

Herkenham M, Lynn AB, Little MD, Jonson MR, Melvin LS, de Costa BR, Rice KC (1990). Cannabinoid receptor localization in brain. *Proc Natl Acad Sci USA.* 87: 1932-1936.

Herkenham M, Lynn AB, Jonson MR, Melvin LS, de Costa BR, Rice KC (1991). Characterization and localization of cannabinoid receptors in rat brain: a quantitative *in vitro* autoradiographic study. *J Neurosci.* 11: 563-583.

Hermann H, Marsicano G, Lutz B (2002). Coexpression of the cannabinoid receptor type 1 with dopamine and serotonin receptors in distinct neuronal subpopulations of the adult mouse forebrain. *Neuroscience.* 109: 451-460.

Heyman GM (1996). Resolving the contradictions of addiction. *Behav Brain Sci.* 19: 561-610.

Hilairt, S, Bouaboula, M, Cerriere, D, Le Fur, G, Casellas, P (2003). Hypersensitization of the Orexin 1 receptor by the CB1 receptor: evidence for cross-talk blocked by the specific CB1 antagonist, SR141716. *J Biol Chem.* 278: 23731-23737.

Hill EL, Gallopin T, Ferezou I, Cauli B, Dossier J, Schweitzer P, Lambolez B (2007). Functional CB1 receptors are broadly expressed in neocortical GABAergic and glutamatergic neurons. *J Neurophysiol.* 97: 2580-2589.

Hill MN, Gorzalka BB (2004). Enhancement of anxiety-like responsiveness to the cannabinoid CB(1) receptor agonist HU-210 following chronic stress. *Eur J Pharmacol.* 24: 291-295.

Hill MN, Gorzalka BB (2006). Increased sensitivity to restraint stress and novelty-induced emotionality following long-term, high dose cannabinoid exposure. *Psychoneuroendocrinology.* 31: 526-536.

Hill MN, Froese LM, Morrish AC, Sun JC, Floresco SB (2006). Alterations in behavioral flexibility by cannabinoid CB1 receptor agonists and antagonists. *Psychopharmacology.* 187: 245-259.

Ho MY, Al-Zahrani SSA, Al-Ruwaitea ASA, Bradshaw CM, Szabadi E (1998). 5-hydroxytryptamine and impulse control: prospects for a behavioural analysis. *J Psychopharmacol.* 12: 68-78.

Hodgson RJ (1993). Exposición a estímulos y prevención de recaídas. En: Casas M, Gossop M: *Recaída y prevención de recaídas: tratamientos psicológicos en drogodependencias*. Sitges. Ediciones en Neurociencias.

Hogg S (1996). A review of the validity and variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety. *Pharmacol Biochem Behav.* 54: 21-30.

Hollander JA, Carelli RM (2007). Cocaine-associated stimuli increase cocaine seeking and activate accumbens core neurons after abstinence. *J Neurosci.* 27: 3535-3539.

Hotsenpiller G, Giorgetti M, Wolf ME (2001). Alterations in behavior and glutamate transmission following presentation of stimuli previously associated with cocaine exposure. *Eur J Neurosci.* 14: 1843-1855.

Houchi H, Babovic D, Pierrefiche O, Ledent C, Daoust M, Naassila M (2005). CB1 receptor knockout mice display reduced ethanol-induced conditioned place preference and increased striatal dopamine D2 receptors. *Neuropsychopharmacology.* 30: 339-349.

Howlett AC (2002). The cannabinoid receptors. *Prost Lipid Mediat.* 68-69: 619-631.

Howlett AC, Breivogel CS, Childres SR, Deadwyler SA, Hampson RE, Porrino LJ (2004). Cannabinoid physiology and pharmacology: 30 years of progress. *Neuropharmacology.* 47 (Suppl 1): 345-358.

Howlett AC, Barth F, Bonner TI, Cabral G, Casellas P, Devane WA, Felder CC, Herkenham M, Mackie K, Martin BR, Mechoulam R, Pertwee RG (2005). International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoid receptors. *Pharmacol Rev.* 54: 161-202.

Hungund BL, Vinod KY, Kassir SA, Basavarajappa BS, Yalamanchili R, Cooper TB, Arango V (2004). Upregulation of CB1 receptors and agonist-stimulated [25S]GTPgammaS binding in the prefrontal cortex of depressed suicide victims. *Mol Psychiatry.* 9: 184-190.

Ilan AB, Smith ME, Gevins A (2004). Effects of marijuana on neurophysiological signals of working and episodic memory. *Psychopharmacology.* 176: 214-222.

Ito R, Dalley JW, Howes SR, Robbins TW, Everitt BJ (2000). Dissociation in conditioned dopamine release in the nucleus accumbens core and shell in response to cocaine cues and during cocaine-seeking behavior in rats. *J Neurosci.* 20: 7489-7495.

Ito R, Dalley JW, Robbins TW, Everitt BJ (2002). Dopamine release in the dorsal striatum during cocaine-seeking behavior under the control of a drug-associated cue. *J Neurosci.* 22: 6247-6253.

Ito R, Robbins TW, Everitt BJ (2004). Differential control over cocaine-seeking behavior by nucleus accumbens core and shell. *Nat Neurosci.* 7: 389-397.

Iversen LL (2000). The science of marijuana. USA, Oxford University Press..

Jacobs EH, Smit AB, de Vries TJ, Schoffelmeer AN (2003). Neuroadaptive effects of active versus passive drug administration in addiction research. *Trends Pharmacol Sci.* 24: 566-573.

Jentsch JD, Andrusiak E, Tran A, Bowers MB, Roth RH (1997). Delta9-tetrahydrocannabinol increases prefrontal cortical catecholaminergic utilization and impairs spatial working memory in the rat: blockade of dopaminergic effects with HA966. *Neuropsychopharmacology.* 16: 426-432.

Jentsch JD, Taylor JR (1999). Impulsivity resulting from frontostriatal dysfunction in drug abuse: implications for the control behavior by reward-related stimuli. *Psychopharmacology.* 146: 373-390.

Johansen EB, Salgvolden T (2004). Response disinhibition may be explained as an extinction deficit in an animal model of attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD). *Behav Brain Res.* 149: 183-196.

Justinova Z, Goldberg SR (2005). The abuse potential of the endocannabinoid transport inhibitor AM404: self-administration by squirrel monkeys. *15<sup>th</sup> Annual Symposium on the cannabinoids*, 2005, Clearwater, USA.

Justinova Z, Solinas M, Tanda G, Redhi GH, Goldberg SR (2005). The endogenous cannabinoid anandamide and its synthetic analog R(+)-methanandamide are intravenously self-administered by squirrel monkeys. *J Neurosci.* 25: 5645-5650.

Kalenscher T, Ohmann T, Güntürkün O (2006). The neuroscience of impulsive and self-controlled decisions. *Int J Psychophysiol.* 62: 203-211.



Kalivas PW (2007). Neurobiology of cocaine addiction: implications for new pharmacotherapy. *Am J Addict.* 16: 71-78.

Kalivas PW, McFarland K (2003). Brain circuitry and the reinstatement of cocaine-seeking behaviour. *Psychopharmacology.* 168: 44-56.

Kalivas PW, Volkow ND (2005). The neural basis of addiction: a pathology of motivation and choice. *Am J Psychiatry.* 162: 1403-1413.

Kalivas PW, McFarland K, Bowers S, Szumlinski K, Xi ZX, Baker D (2003). Glutamate transmission and addiction to cocaine. *Ann N Y Acad Sci USA.* 1003: 169-175.

Kalivas PW, Peters J, Knackstedt L (2006). Animal models and brain circuits in drug addiction. *Mol Interv.* 6: 339-344.

Kandel D, Chen K, Warner LA, Kessler RC, Grant B (1997) Prevalence and demographic correlates of symptoms of last year dependence on alcohol, nicotine, marijuana and cocaine in the US population. *Drug Alcohol Depend.* 44: 11-29.

Kantak KM, Black Y, Valencia E, Green-Jordan K, Eichembaum HB (2002). Dissociable effects of lidocaine inactivation of the rostral and caudal basolateral amygdala on the maintenance and reinstatement of cocaine-seeking behavior in rats. *J Neurosci.* 22: 1126-1136.

Katona I, Rancz EA, Acsady L, Ledent C, Mackie K, Hajos N, Freund TF (2001). Distribution of CB1 cannabinoid receptors in the amygdala and their role in the control of GABAergic transmission. *J Neurosci.* 21: 9506-18.

Khantzian EJ (1985). The self-medication hypothesis of addictive disorders: focus on heroin and cocaine dependence. *Am J Psychiatry.* 142: 1259-1264.

Kofalvi A, Rodrigues RJ, Ledent C, Mackie K, Vizi ES, Cunha RA, Sperlagh B (2005). Involvement of cannabinoid receptors in the regulation of neurotransmitter release in the

rodent striatum: a combined immunochemical and pharmacological analysis. *J Neurosci* 25: 2874-2884.

Koob GF (1996). Drug addiction: the yin and yang of hedonic homeostasis. *Neuron*. 16: 893-896.

Koob GF (2000). Animal models of drug addiction. En: Bloom E y Kupfer DJ, *Psychopharmacology: The fourth generation in progress*. New York, Raven Press.

Koob GF (2004). Allostatic view of motivation: implications for psychopathology. En: Bevins, R, Bardo MT, *Motivational factors in the etiology of drug abuse (Nebraska symposium on motivation, vol. 50)*. Lincoln NE, University of Nebraska press, pp. 1-18.

Koob GF, Le Moal M (2001). Drug addiction, dysregulation of reward, and allostasis. *Neuropsychopharmacology*. 24: 97-129.

Koob GF, Sanna PP, Bloom FE (1998). Neuroscience of addiction. *Neuron*. 21. 467-476.

Koob GF, Le Moal (2004). Drug addiction and allostasis. En: Schulkin J, *Allostasis, homeostasis, and the costs of physiological adaptation*. New York, Cambridge University Press.

Koob GF, Le Moal M (2006). Psychostimulants. En: Koob, GF, Le Moal, M, *Neurobiology of addiction*. San Diego, Elsevier Inc.

Kreek MJ, Nielsen DA, Butelman ER, LaForge S (2005). Genetic influences on impulsivity, risk taking, stress responsivity and vulnerability to drug abuse and addiction. *Nat Neurosci*. 8: 1450-1457.

Kreitzer AC, Regehr WG (2001a). Cerebellar depolarization-induced suppression of inhibition is mediated by endogenous cannabinoids. *J Neurosci*. 21: RC174.

Kreitzer AC, Regehr WG (2001b). Retrograde inhibition of presynaptic calcium influx by endogenous cannabinoids at excitatory synapses onto Purkinje cells. *Neuron*. 29: 717-727.

Kruzich PJ, Congleton KM, See RE (2001). Conditioned reinstatement of drug seeking behavior with a discrete compound stimulus classically conditioned with intravenous cocaine. *Behav Neurosci.* 115: 1086-1092.

Lamers CTJ, Bechara A, Rizzo M, Ramaekers JG (2006). Cognitive function and mood in MDMA/THC users, THC users and non-drug using controls. *J Psychopharmacol.* 20: 302-311.

Lane SD, Cherek DR, Rhoades HM, Pietras CJ, Tcheremissine OV (2003). Relationships among laboratory and psychometric measures of impulsivity: implications in substance abuse and dependence. *Addict Disord Their Treatment.* 2: 33-40.

Lane SD, Cherek DR, Tcheremissine OV, Lieving LM, Pietras CJ (2005). Acute marijuana effects on human risk taking. *Neuropsychopharmacology.* 30: 800-809.

Landsman RS, Burkey TH, Consroe P, Roeske WR, Yamamura HI (1997). SR141716A is an inverse agonist at the human cannabinoid CB1 receptor. *Eur J Pharmacol.* 334: R1-R2.

Le Foll B, Goldberg SR (2005). Cannabinoid CB1 receptor antagonists as promising new medications for drug dependence. *J Pharmacol Exp Ther.* 312: 875-883.

Lejuez CW, Bornovalova MA, Reynolds EK, Daughters SB, Curtin JJ (2007). Risk factors in the relationship between gender and crack/cocaine. *Exp Clin Psychopharmacol.* 15: 165-175.

Lesscher HMB, Hoogveld E, Burbach JPH, van Ree JM, Gerrits MAFM (2004). Endogenous cannabinoids are not involved in cocaine reinforcement and development of cocaine-induced behavioural sensitization. *Eur neuropsychopharmacol.* 15: 31-7.

Li CS, Milivojevic V, Constable RT, Sinha, R (2005). Recent cannabis abuse decreased stress-induced BOLD signals in the frontal and cingulate cortices of cocaine dependent individuals. *Psychiatry Res.* 140: 271-280.

Lichtman AH (2000). SR 141716A enhances spatial memory as assessed in a radial-arm maze task in rats. *Eur J Pharmacol.* 404: 175-179.

Limosin F, Loze JY, Dubertret C, Gouya L, Ades J, Rouillon F, Gorwood P (2003). Impulsiveness as the intermediate link between the dopamine receptor D2 gene and alcohol dependence. *Psychiatr Genet.* 13: 127-129.

Littleton J (2000). Can craving be modeled in animals? The relapse prevention perspective. *Addiction.* 95: S83-S90.

Lizasoain I, Moro MA, Lorenzo P (2001). Cocaína: aspectos farmacológicos. *Adicciones.* 14: 57-64.

Logan GD (1994). On the ability to inhibit thought and action: a users' guide to the stop signal paradigm. En: Dagenbach D, Carr TH, *Inhibitory processes in attention, memory, and language.* San Diego, Academic Press.

Logan GD, Cowan WB (1984). On the ability to inhibit thought and action: a theory of an act of control. *Psychol Rev.* 91: 295-327.

Logue AW, Tobin H, Chelonis JJ, Wang RY, Geary N, Schachter S (1992). Cocaine decreases self-control in rats: a preliminary report. *Psychopharmacology.* 109: 245-247.

López-Moreno JA, González-Cuevas G, Rodríguez de Fonseca F, Navarro M (2004). Long-lasting increase of alcohol relapse by the cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2 during alcohol deprivation. *J Neurosci.* 24: 8245-8252.

Lu L, Hayasi T, Grimm JW, Su TP, Shaham Y, Hope BT (2002). Time-dependent molecular alterations during abstinence from cocaine self-administration. *Society for Neuroscience Abstracts.* Poster 501-19.

Lubman DI, Yücel M, Pantelis C (2004). Addiction, a condition of compulsive behaviour? Neuroimaging and neuropsychological evidence of inhibitory dysregulation. *Addiction.* 99: 1491-1502.

Lukas SE, Sholar M, Kouri E, Fukuzako H, Mendelson JH (1994). Marihuana smoking increases plasma cocaine levels and subjective reports of euphoria in male volunteers. *Pharmacol Biochem Behav.* 48: 715-721.

Luria AR (1980). Higher cortical functions in man. New York, Basic Books.

Lynskey MT, Hall W (2001). Attention deficit hyperactivity disorder and substance use disorders: is there a causal link? *Addiction.* 96: 815-822.

Lyvers M (2000). "Loss of control" in alcoholism and drug addiction: a neuroscientific interpretation. *Exp Clin Psychopharmacol.* 8: 225-249.

Mackie K (2005). Distribution of cannabinoid receptors in the central and peripheral nervous system. *Handb Exp Pharmacol.* 168: 299-325.

MacRae JR, Scoles MT, Siegel S (1987). The contribution of pavlovian conditioning to drug tolerance and dependence. *Br J Addict.* 82: 371-380.

Mailleux P, Vanderhaeghen JJ (1992). Distribution of neuronal cannabinoid receptor in the adult rat brain: a comparative receptor binding radioautography and in situ hybridization histochemistry. *Neuroscience.* 48: 655-668.

Maisto SA, Connors GJ. (2006). Relapse in the addictive behaviors: Integration and future directions. *Clin Psychol Rev.* 26: 229-231.

Majewska MD (1996). Cocaine addiction as a neurological disorder: Implications for treatment. *NIDA Res Mon.* 163: 1-26.

Maldonado R, Valverde O, Berrendero F (2006). Involvement of the endocannabinoid system in drug addiction. *Trends Neurosci.* 29: 225-232.

Mansbach RS, Rovetti CC, Winston EN, Lowe JA (1996). Effects of the cannabinoid CB1 receptor antagonist SR141716A on the behavior of pigeons and rats. *Psychopharmacology.* 124: 315-322.

Marco EM, Perez-Alvarez L, Borcel E, Rubio M, Guaza C, Ambrosio E, File SE, Viveros MP (2004). Involvement of 5-HT<sub>1A</sub> receptors in behavioural effects of the cannabinoid receptor agonist CP 55,940 in male rats. *Behav Pharmacol.* 15: 21-27.

Marco EM, Adriani W, Canese R, Podo F, Viveros MP, Laviola G. (2006). Enhancement of endocannabinoid signalling during adolescence: modulation of impulsivity and long-term consequences on metabolic brain parameters in early maternally deprived rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 86: 334-345.

Marin S, Marco E, Biscaia M, Fernandez B, Rubio M, Guaza C, Schmidhammer H, Viveros MP (2003). Involvement of the kappa-opioid receptor in the anxiogenic-like effect of CP 55,940 in male rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 74: 649-656.

Marlatt AG (2002). Do animals models provide a valid analogue for human drug lapse and relapse? Comment on Leri and Stewart. *Exp Clin Psychopharmacol.* 10: 359-360.

Marlatt AG, Gordon JR (1985). Relapse prevention: Maintenance strategies in the treatment of the addictive behaviors. New York, Guilford Press.

Marsicano G, Lutz B (1999). Expression of the cannabinoid receptor CB<sub>1</sub> in distinct neuronal subpopulations in the adult mouse forebrain. *Eur J Neurosci.* 11: 4213-4225.

Marsicano G, Wotjak CT, Azad SC, Bisogno T, Rammes G, Cascio MG, Hermann H, Tang J, Hofmann C, Zieglansberger W, Di Marzo V, Lutz B (2002). The endogenous cannabinoid system controls extinction of aversive memories. *Nature.* 418: 488-489.

Martellota MC, Cossu G, Fattore L, Gessa GL, Fratta W (1998). Self-administration of the cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2 in drug-naïve rats. *Neuroscience.* 85: 327-30.

Martin M, Ledent C, Parmentier M, Maldonado R, Valverde O (2000). Cocaine, but not morphine, induces conditioned place preference and sensitization to locomotor responses in CB<sub>1</sub> knockout mice. *Eur J Neurosci.* 12: 4038-4046.

- Martin M, Ledent C, Parmentier M, Maldonado R, Valverde O (2002). Involvement of CB1 cannabinoid receptors in emotional behaviour. *Psychopharmacology*. 159: 379-387.
- Martin RS, Secchi RL, Sung E, Lemaire M, Bonhaus DW, Hedley LR, Lowe DA (2003). Effects of cannabinoid receptor ligands on psychosis-relevant behavior models in the rat. *Psychopharmacology*. 165: 128-135.
- Marx J (2006). Drugs inspired by a drug. *Science* 311: 322-325.
- Matsuda LA, Lolait SJ, Brownstein M, Young A, Bonner TI (1990). Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature*. 346: 561-564.
- Matsuda LA, Bonner TI, Lolait SJ (1993). Localization of cannabinoid receptor mRNA in rat brain. *J Comp Neurol*. 327: 535-550.
- McDonald J, Schleifer L, Richards JB, de Wit H (2003). Effects of THC on behavioral measures of impulsivity in humans. *Neuropsychopharmacology*. 28: 1356-1365.
- McFarland K, Kalivas PW (2001). The circuitry mediating cocaine-induced reinstatement of drug-seeking behavior. *J Neurosci*. 21: 8655-8663.
- McFarland F, Lapish CC, Kalivas PW (2003). Prefrontal glutamate release into the core of the nucleus accumbens mediates cocaine-induced reinstatement of drug seeking behavior. *J Neurosci*. 23: 3531-3537.
- McGaughy J, Dalley JW, Morrison CH, Everitt BJ, Robbins TW (2002). Selective behavioral and neurochemical effects of cholinergic lesions produced by intrabasalis infusions of 192 IgG-Saporin on attentional performance in a five-choice serial reaction time task. *J Neurosci*. 22: 1905-1913.
- McKay JR, Rutherford M, Alterman AI, Cacciola JC (1996). Development of the cocaine relapse interview: An initial report. *Addiction*. 91: 535-548.

McKay JR, Franklin TR, Patapis N, Lynch KG (2006). Conceptual, methodological, and analytical issues in the study of relapse. *Clin Psychol Rev.* 26: 109-127.

Mechoulam R, Shabat SB, Hanus L, Ligumsky M, Karninski NE, Schatz AR, Gopher A, Almog S, Martin BR, Compton DR, Pertwee RG, Griffin G, Bayewitch M, Barg J, Vogel Z (1995). Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochem Pharmacol.* 50: 83-90.

Miller EK, Cohen JD (2001). An integrative theory of prefrontal cortex function. *Annual Rev Neurosci.* 24: 167-202.

Miller NS, Klahr AL, Gold MS, Sweeney K, Cocores JA, Sweeney DR (1990). Cannabis diagnosis of patients receiving treatment for cocaine dependence. *J Subst Abuse.* 2: 107-111.

Miller NS, Gold MS (1994). Dissociation of “conscious desire” (craving) from and relapse in alcohol and cocaine dependence. *Ann Clin Psychiatry.* 6: 99-106.

Miller JD, Gardner-Keaton H, Harrell AV, Wirtz PW, Abelson HL, Fishburne PM (1985). National survey in drug abuse: Main findings (pp. 1-141). Rockville MD: National Institute on Drug Abuse. U.S. Dept. of Health and Human Services.

Moeller FG, Dougherty DM (2002). Impulsivity and substance abuse: what is the connection? *Addict Disord Their Treatment.* 1: 3-10.

Moeller FG, Dougherty DM, Barrat ES, Schmitz JM, Swann AC, Grabowski J (2001). The impact of impulsivity on cocaine use and retention in treatment. *J Subst Abuse Treat.* 21: 193-198.

Muir JL, Everitt BJ, Robbins TW (1996). The cerebral cortex of the rat and visual attentional function: dissociable effects of mediofrontal, cingulate, anterior dorsolateral, and parietal lesions on a five-choice serial reaction time task. *Cereb Cortex.* 6: 470-481.



Munro S, Thomas KL, Abu-Shaar M (1993). Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature*. 365: 61-65.

Myers KM, Davis M (2002). Behavioral and neural analysis of extinction. *Neuron*. 36: 567-584.

Myers KM, Davis M (2007). Mechanisms of fear extinction. *Mol Psychiatry*. 12: 120-150.

Naidu PS, Varvel SA, Ahn K, Cravatt BF, Martin BR, Lichtman AH (2007). Evaluation of fatty acid amide hydrolase inhibition in murine models of emotionality. *Psychopharmacology*. 192: 61-70.

Navarro M, Hernandez E, Muñoz RM, Del Arco I, Villanua MA, Carrera MR, Rodriguez de Fonseca F (1997). Acute administration of the CB1 cannabinoid receptor antagonist SR 141716A induces anxiety-like responses in the rat. *Neuroreport*. 8: 491-496.

Nederkoorn C, Braet C, Van Eijs Y, Tanghe A, Jansen A (2006). Why obese children cannot resist food: the role of impulsivity. *Eat Behav*. 7: 315-322.

Nederkoorn C, Jansen E, Mulken S, Jansen A (2007). Impulsivity predicts treatment outcome in obese children. *Behav Res Ther*. 45: 1071-1075.

Nestler EJ (2001). Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction. *Nat Rev Neurosci*. 2: 119-128.

Nestler EJ (2004). Historical review: molecular and cellular mechanisms of opiate and cocaine addiction. *Trends Pharmacol Sci*. 25: 210-218.

Nestler EJ, Hyman SE, Malenka RC (2001). Molecular basis of neuropharmacology: a foundation for clinical neuroscience. New York, McGraw-Hill.

Nutt D, King LA, Saulsbury W, Blakemore C (2007). Development of a rational scale to assess the harm of drugs of potential misuse. *Lancet*. 369: 1047-1053.

O'Brien, CP (2005). Anticraving medications for relapse prevention: a posible new class of psychoactive medications. *Am J Psychiatry*. 162: 1411-1422.

O'Brien CP, Childress AR, Ehrman R, Robbins SJ (1998). Conditioning factors in drug abuse: can they explain compulsion? *J Psychopharmacol*. 12: 15-22.

O'Malley PM, Johnston LD, Bachman JG (1985). Cocaine use among American adolescents and young adults. En: Kozel HG, Adams EH, *Cocaine use in America: Epidemiologic and clinical perspectives*. National Institute on Drug Abuse Research Monograph Series 61.

Observatorio Europeo de las Drogas y las Toxicomanías (OEDT). Informe anual 2006: el problema de la drogodependencia en Europa.

Ohno-Shosaku T, Maejima T, Kano M (2001). Endogenous cannabinoids mediate retrograde signals from depolarized postsynaptic neurons to presynaptic terminals. *Neuron*. 29: 729-738.

Olmstead, MC (2006). Animal models of drug addiction: where do we go from here?. *Q J Exp Psychol*. 59: 625-653.

Onaivi ES, Green MR, Martin BR (1990). Pharmacological characterization of cannabinoids in the elevated plus maze. *J Pharmacol Exp Ther*. 253: 1002-1009.

Otterson OP (1982). Connections of the amygdala of the rat. IV. Corticoamygdaloid and intraamygdaloid connections as studied with axonal transport of horseradish peroxidase. *J Comp Neurol*. 205: 30-48.

Page ME, Oropeza VC, Sparks SE, Qian Y, Menko AS, Van Bockstaele EJ (2007). Repeated cannabinoid administration increases indices of noradrenergic activity in rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 86: 162-168.

Paine TA, Olmstead MC (2003). Impaired response inhibition and conditional discrimination following acute cocaine administration. *Psychopharmacology*. 175: 443-450.

Paine TA, Dringenberg HC, Olmstead MC (2003). Effects of chronic cocaine on impulsivity: Relation to cortical serotonin mechanisms. *Behav Brain Res*. 147: 135-147.

Pandolfo P, Pamplona FA, Prediger RD, Takahashi RN (2007). Increased sensitivity of adolescent spontaneously hypertensive rats, an animal model of attention deficit hyperactivity disorder, to the locomotor stimulation induced by the cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2. *Eur J Pharmacol*. 563: 141-148.

Panlilio LV, Solinas M, Matthews SA, Goldber SR (2006). Previous exposure to THC alters the reinforcing efficacy and anxiety-related effects of cocaine in rats. *Neuropsychopharmacology*. 32: 646-657.

Parker LA, Burton P, Sorge RE, Yakiwchuk C, Mechoulam R (2004). Effect of low doses of delta(9)-tetrahydrocannabinol and cannabidiol on the extinction of cocaine-induced and amphetamine-induced conditioned place preference learning in rats. *Psychopharmacology*. 175: 360-366.

Parsons LH, Koob GF, Weiss F (1995). Extracellular serotonin is decreased in the nucleus accumbens during withdrawal after unlimited access to intravenous cocaine. *J Pharmacol Exp Ther*. 274: 1182-1191.

Patel S, Roelke CT, Rademacher DJ, Cullinan WE, Hillard CJ (2004). Endocannabinoid signaling negatively modulates stress-induced activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Endocrinology*. 145: 5431-5438.

Patel S, Hillard, CJ (2006). Pharmacological evaluation of cannabinoid receptor ligands in a mouse model of anxiety: further evidence for an anxiolytic role for endogenous cannabinoid signaling. *J Pharmacol Exp Ther*. 318: 304-311.

Patkar AA, Murray HW, Mannelli P, Gottheil E, Weinstein SP, Vergare MJ (2004). Pre-treatment measures of impulsivity, aggression and sensation seeking are associated with treatment outcome for African-American cocaine-dependent patients. *J Addict Dis.* 23: 109-122.

Pattij T, Janssen MCW, Vanderschuren LJMJ, Schoffelmeer ANM, Van Gaalen MM (2006). Involvement of dopamine D<sub>1</sub> and D<sub>2</sub> receptors in the nucleus accumbens core and shell in inhibitory response control. *Psychopharmacology.* 191: 587-598.

Pavlov IP (1927). Conditioned reflexes. New York, Dover Publications.

Pazos MR, Nunez E, Benito C, Tolon RM, Romero J (2005). Functional neuroanatomy of the endocannabinoid system. *Pharmacol Biochem Behav.* 81: 239-247.

Perry JL, Larson EB, German JP, Madden GJ, Carroll ME (2005). Impulsivity (delay discounting) as a predictor of acquisition of IV cocaine self-administration in female rats. *Psychopharmacology.* 178: 193-201.

Piazza PV, Le Moal M (1996). Pathophysiological basis of vulnerability to drug abuse: Role of an interaction between stress, glucocorticoids, and dopaminergic neurons. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 36: 359-378.

Piazza PV, Le Moal M (1998). The role of stress in drug self-administration. *Trends Pharmacol Sci.* 19: 67-74.

Piazza PV, Rouge-Pont F, Deroche V, Maccari S, Simon H, Le Moal M (1996). Glucocorticoids have state-dependent stimulant effects on the mesencephalic dopaminergic transmission. *Ann N Y Acad Sci USA.* 93: 8716-8720.

Pickens R, Thompson T (1968). Cocaine-reinforced behavior in rats: effects of reinforcement magnitude and fixed-ratio size. *J Pharmacol Exp Ther.* 161: 122-129.

Pierce RC, Kumaresan V (2006). The mesolimbic dopamine system: the final common pathway for the reinforcing effect of drugs of abuse. *Neurosci Biobehav Rev.* 30: 215-238.

- Piomelli, D. (2001). Cannabinoid activity curtails cocaine craving. *Nat Med.* 7: 1099-1100.
- Piomelli D, Beltramo M, Giuffrida A, Stella N (1998). Endogenous cannabinoid signaling. *Neurobiol Dis.* 5: 462-473.
- Pistis M, Perra S, Pillolla G, Melis M, Gessa GL, Muntoni AL (2004). Cannabinoids modulate neuronal firing in the rat basolateral amygdala: evidence for CB1- and non-CB1-mediated actions. *Neuropharmacology.* 46: 115-125.
- Platt JJ (1997). Cocaine addiction: theory, research and treatment. Cambridge. Harvard University Press.
- Poling J, Kosten TR, Sofuoglu M (2007). Treatment outcome predictors for cocaine dependence. *Am J Drug Alcohol Abuse.* 33: 191-206.
- Ponce G, Hoenicka J, Rubio G, Ampuero I, Jimenez-Arriero MA, Rodriguez-Jimenez R, Palomo T, Ramos JA (2003). Association between cannabinoid receptor gene (CNR1) and childhood attention deficit/hyperactivity disorder in Spanish male alcoholic patients. *Mol Psychiatry.* 8: 466-467.
- Porrino LJ, Lyons D, Smith HR, Daunais JB, Nader MA (2004). Cocaine self-administration produces a progressive involvement of limbic, association, and sensorimotor striatal domains. *J Neurosci.* 24: 3554-3562.
- Pothuizen HH, Jongen-Relo AL, Feldon J, Yee BK (2005). Double dissociation of the effects of selective nucleus accumbens core and shell lesions on impulsive-choice behaviour and salience learning in rats. *Eur J Neurosci.* 22: 2605-2616.
- Poulos CX, Hinson RE, Siegel S (1981). The role of pavlovian processes in drug tolerance and dependence: implications for treatment. *Addict Behav.* 6: 205-211.
- Preuss UW, Koller G, Bondy B, Bahlmann M, Soyka M (2001). Impulsive traits and 5-HT2A receptor promoter polymorphism in alcohol dependents: possible association but no influence of personality disorders. *Neuropsychobiology.* 43: 186-191.

- Pryor, G.T.; Larsen, F.F.; Husain, S.; Braude, M.C. (1978). Interactions of delta9-tetrahydrocannabinol with d-amphetamine, cocaine, and nicotine in rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 8: 295–318.
- Quednow BB, Kühn KU, Hoppe C, Westheide J, Maier W, Daum I, Wagner M (2007). Elevated impulsivity and impaired decision-making cognition in heavy users of MDMA (“ecstasy”). *Psychopharmacology.* 189: 517-530.
- Rachlin H, Logue AW, Gibbon J, Frankel M (1986). Cognition and behavior in studies of choice. *Psychol Rev.* 93: 33-45.
- Ramaekers JG, Moeller MR, van Ruitenbeek P, Theunissen EL, Schneider E, Kauert G (2006a). Cognition and motor control as a function of Delta9-THC concentration in serum and oral fluid: limits of impairment. *Drug Alcohol Depend.* 85: 114-122.
- Ramaekers JG, Kauert G, van Ruitenbeek P, Theunissen EL, Schneider E, Moeller MR (2006b). High-potency marijuana impairs executive function and inhibitory motor control. *Neuropsychopharmacology.* 31: 2296-2303.
- Ramsey NF, Van Ree JM (1993). Emotional but not physical stress enhances intravenous cocaine self-administration in drug-naïve rats. *Brain Res.* 608: 216-222.
- Rebec GV, Sun W (2005). Neuronal substrates of relapse to cocaine-seeking behavior: role of prefrontal cortex. *J Exp Anal Behav.* 84: 653-666.
- Reid JM, Bornheim LM (2001). Cannabinoid-induced alterations in brain disposition of drugs of abuse. *Biochem Pharmacol.* 61: 1357-1367.
- Reiger DA, Farmer ME, Rae DS, Locke BZ, Keith SJ, Judd LL, Goodwin FK (1990). Comorbidity of mental disorders with alcohol and other drug abuse. Results from the Epidemiologic Catchment Area (ECA) Study. *JAMA.* 264: 2511-2518.

Rinaldi-Carmona M, Barth F, Heaulme M, Shire D, Calandra B, Congy C, Soubrie P, Breliere JC, Le Fur G (1994). SR 141716A, a potent and selective antagonist of the brain cannabinoid receptor. *FEBS lett.* 350: 240-244.

Ritz MC, Cone EJ, Kuhar MJ (1990). Cocaine inhibition of ligand binding at dopamine, norepinephrine and serotonin transporters: a structure-activity study. *Life Sci.* 46: 635-645.

Robbins TW (2002). The 5-choice serial reaction time task: behavioural pharmacology and functional neurochemistry. *Psychopharmacology.* 163: 362-380.

Roberts DC, Corcoran ME, Fibiger HC (1977). On the role of ascending catecholaminergic systems in intravenous self-administration of cocaine. *Pharmacol Biochem Behav.* 6: 615-620.

Robinson TE, Berridge KC (1993). The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Res Rev.* 18: 247-291.

Robinson TE, Berridge KC (2001). Mechanisms of action of addictive stimuli. Incentive-sensitization and addiction *Addiction* 96: 103-114.

Robinson TE, Gorny G, Mitton E, Kolb B (2001). Cocaine self-administration alters the morphology of dendrites and dendritic spines in the nucleus accumbens and neocortex. *Synapse.* 39: 257-266.

Robinson TE, Berridge KC (2003). Addiction. *Annu Rev Psychol.* 54: 25-53.

Robson P (2005). Human studies of cannabinoids and medicinal cannabis. *Handb Exp Pharmacol.* 168: 719-756.

Rocha BA (2003). Stimulant and reinforcing effects of cocaine in monoamine transporter knockout mice. *Eur J Pharmacol.* 479: 107-115.

Rodgers RJ, Haller J, Halasz J, Mikics E (2003). "One-trial sensitization" to the anxiolytic-like effects of cannabinoid receptor antagonist SR141716A in the mouse elevated plus-maze. *Eur J Neurosci.* 17: 1279-1286.

Rodríguez de Fonseca F, Carrera MR, Navarro M, Koob GF, Weiss F (1997). Activation of corticotropin-releasing factor in the limbic system during cannabinoid withdrawal. *Science.* 276: 2050-2054.

Rodríguez de Fonseca F, del Arco I, Bermúdez-Silva FJ, Bilbao A, Cippitelli A, Navarro M (2005). The endocannabinoid system: physiology and pharmacology. *Alcohol Alcohol.* 40: 2-14.

Rosecan JS, Nunes EV (1987). Pharmacological management of cocaine abuse. En: Spitz HI y Rosecan JS, *Cocaine abuse: new directions in treatment and research*. New York, Brunner/Mazel.

Rubino T, Sala M, Vigano D, Braida D, Castiglioni C, Limonta V, Guidali C, Realini N, Parolaro D (2007). Cellular mechanisms underlying the anxiolytic effect of low doses of peripheral delta(9)-tetrahydrocannabinol in rats. *Neuropsychopharmacology.* 32: 2036-45.

Rush CR, Roll JM, Higgins ST (1998). Controlled laboratory studies on the effects of cocaine in combination with other commonly abused drugs in humans. En: S.T. Higgins and J.L. Katz, *Cocaine abuse: behavior, pharmacology, and clinical applications*. San Diego, Academic Press.

Ryan F (2002). Detected, selected, and sometimes neglected: cognitive processing of cues in addiction. *Exp Clin Psychopharmacol.* 15: 204-218.

Sarnyal Z, Shaham Y, Heinrichs SC (2001). The role of corticotropin-releasing factor in drug addiction. *Pharmacol Rev.* 53: 209-243.

Schenk S, Patridge B (1999). Cocaine-seeking produced by experimenter-administered drug injections: dose-effect relationships in rats. *Psychopharmacology.* 147: 285-290.



Schlicker E, Kathmann M (2001). Endocannabinoid system as a target for therapeutic drugs. *Trends Pharmacol Sci.* 21: 218-224.

Schoffelmeer ANM, Hogenboom F, Wardeh G, De Vries TJ (2006). Interactions between CB1 cannabinoid and  $\mu$  opioid receptors mediating inhibition of neurotransmitter release in rat nucleus accumbens core. *Neuropharmacology.* 51: 773-781.

Schuster CR, Woods JH (1968). The conditioned reinforcing effects of stimuli associated with morphine reinforcement. *Int J Addict.* 3: 223-230.

See RE (2002). Neural substrates of conditioned-cued relapse to drug-seeking behavior. *Pharmacol Biochem Behav.* 71: 517-529.

See RE (2005). Neural substrates of cocaine-cue associations that trigger relapse. *Eur J Pharmacol.* 526: 140-146.

See RE, Grimm JW, Kruzich PJ, Rustay N (1999). The importance of a compound stimulus in conditioned drug-seeking behavior following one week of extinction from self-administered cocaine in rats. *Drug Alcohol Depend.* 57: 41-49.

See RE, Kruzich PJ, Grimm JW (2001). Dopamine, but not glutamate, receptor blockade in the basolateral amygdala attenuates conditioned reward in a rat model of relapse to cocaine-seeking behavior. *Psychopharmacology.* 154: 301-310.

Self DW, Nestler EJ (1998). Relapse to drug-seeking: neural and molecular mechanisms. *Drug Alcohol Depend.* 51: 49-60.

Shalev U, Grimm JW, Shaham Y (2002). Neurobiology of relapse to heroin and cocaine seeking: a review. *Pharmacol Rev.* 54: 1-42.

Shaham Y; Erb S, Stewart J (2000). Stress-induced relapse to heroin and cocaine seeking in rats: a review. *Brain Res Rev.* 33: 13-33.

Shaham Y, Shalev U, Lu L, de Wit H, Stewart J (2003). The reinstatement model of drug relapse: history, methodology and major findings. *Psychopharmacology* 168: 3-20.

Shaham Y, Hope BT (2005). The role of neuroadaptations in relapse to drug seeking. *Nat Neurosci.* 8: 1437-1439.

Siegel S (1979). The role of conditioning in drug tolerance and addiction. En Keehn JD, *Psychopathology in animals: research and treatment implication*. Academic Press, New York.

Siegel S (1981). The role of Pavlovian processes in drug tolerance and dependence: implications for treatment. *Addict Behav.* 6: 205-211.

Shaham Y, Shalev U, Lu L, De Wit H (2003). The reinstatement model of drug relapse: history, methodology and major findings. *Psychopharmacology*. 168: 3-20.

Simons JS, Carey KB (2002). Risk and vulnerability for marijuana use problems: the role of affect dysregulation. *Psychol Addict Behav.* 16: 72-75.

Sinha R (2001). How does stress increase risk of drug abuse and relapse? *Psychopharmacology*. 158: 343-359.

Sinha R, Catapano D, O'Malley S (1999). Stress-induced craving and stress response in cocaine dependent individuals. *Psychopharmacology*. 142: 343-351.

Sinha R, Fuse T, Aubin LR, O'Malley SS (2000). Psychological stress, drug-related cues and cocaine craving. *Psychopharmacology*. 152: 140-148.

Sinha R, Talih M, Malison R, Cooney N, Anderson GM, Kreek MJ (2003). Hypothalamic-pituitary-adrenal axis and sympatho-adreno-medullary responses during stress-induced and drug cue-induced cocaine craving states. *Psychopharmacology*. 170: 62-72.

Smart RG, Ogborne AC, Newton-Taylor B (1990). Drug abuse and alcohol problems among cocaine abusers in an assessment/referral service. *Br J Addict.* 85: 1595-1598.

Smith SG, Davis WM (1975). A method for chronic intravenous drug administration in the rat. En: Ehrenpreis S, Neidle A, *Methods in narcotic research*. New York, Marcel Dekker.

Smith AM, Fried PA, Hogan MJ, Cameron I (2004). Effects of prenatal marijuana on response inhibition: an fMRI study of young adults. *Neurotoxicol Teratol*. 26: 533-542.

Solanto MV, Abikoff H, Sonuga-Barke E, Schachar R, Logan GD, Wigal T, Hechtman L, Hinshaw S, Turkel E (2001). The ecological validity of delay aversion and response inhibition as measures of impulsivity in AD/HD: a supplement to the NIMH multimodal treatment study of AD/HD. *J Abnorm Child Psychol*. 29: 215-228.

Solinas M, Panlilio LV, Antoniou K, Pappas LA, Goldberg SR (2003). The cannabinoid CB1 antagonist N-piperidinyl-5-(4-chlorophenyl)-1-(2,4-dichlorophenyl)-4-methylpyrazole-3-carboxamide (SR-141716A) differentially alters the reinforcing effects of heroin under continuous reinforcement, fixed ratio, and progressive ratio schedules of drug self-administration in rats. *J Pharmacol Exp Ther*. 306: 93-102.

Solinas M, Goldberg SR (2005). Motivational effects of cannabinoids and opioids on food reinforcement depend on simultaneous activation of cannabinoid and opioid systems. *Neuropsychopharmacology*. 30: 2035-2045.

Solowij N, Michie PT, Fox AM (1995). Differential impairment of selective attention due to frequency and duration of cannabis use. *Biol Psychiatry*. 37: 731-739.

Soria G, Mendizabal V, Tourino C, Robledo P, Ledent C, Parmentier M, Maldonado R, Valverde O (2005). Lack of CB1 cannabinoid receptor impairs cocaine self-administration. *Neuropsychopharmacology*. 30: 1670-1680.

Soubrié P (1986). Reconciling the role of central serotonin neurons in human and animal behavior. *Behav Brain Sci*. 9: 319-364.

Spanagel R, Weiss F (1999). The dopamine hypothesis of reward: past and current status. *Trends Neurosci*. 22: 521-527.

Spealman RD, Barrett-Larimore RL, Rowlett JK, Platt DM, Khroyan TV (1999). Pharmacological and environmental determinants of relapse to cocaine-seeking behavior. *Pharmacol Biochem Behav.* 64: 327-336.

Steele CM, Josephs RA (1990). Alcohol myopia. *American Psychologist.* 45: 921-933.

Stewart J, de Wit H, Eikelboom R (1984). The role of unconditioned and conditioned drug effects in the self-administration of opiates and stimulants. *Psychol Rev.* 91: 251-268.

Sugiura T, Kobayashi Y, Oka S, Waku K (2002). Biosynthesis and degradation of anandamide and 2-arachidonoylglycerol and their possible physiological significance. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 66: 173-192.

Sullivan MA, Rudnik-Levin F (2001). Attention deficit/hyperactivity disorder and substance abuse. Diagnostic and therapeutic considerations. *Ann N Y Acad Sci USA.* 931: 251-270.

Szabo B, Muller T, Koch H (1999). Effects of cannabinoids on dopamine release in the corpus striatum and the nucleus accumbens *in vitro*. *J Neurochem.* 73: 1084-1089.

Szabo B, Siemes S, Wallmichrath I (2002). Inhibition of GABAergic neurotransmission in the ventral tegmental area by cannabinoids. *Eur J Neurosci.* 15: 2057-2061.

Takahashi RN, Pamplona FA, Fernandes MS (2005). The cannabinoid antagonist SR141716A facilitates memory acquisition and consolidation in the mouse elevated T-maze. *Neurosci Lett.* 380: 270-275.

Tanda G, Pontieri FE, Di Chiara G (1997). Cannabinoid and heroin activation of mesolimbic dopamine transmission by a common  $\mu$ 1 opioid receptor mechanism. *Science.* 276: 2048-2050.

Tanda G, Munzar P, Goldberg SR (2000). Self-administration behavior is maintained by the psychoactive ingredient of marijuana in squirrel monkeys. *Nat Neurosci.* 3: 1073-1074.

Tasker J (2004). Endogenous cannabinoids take the edge off neuroendocrine responses to stress. *Endocrinology*. 145: 5429-5430.

Terranova JP, Storme JJ, Lafon N, Perio A, Rinaldi-Carmona M, Le Fur G, Soubrie P (1996). Improvement of memory in rodents by the selective CB1 cannabinoid antagonist, SR141716. *Psychopharmacology*. 126: 165-172.

Thomas MJ, Beurrier C, Bonci A, Malenka RC (2001). Long-term depression in the nucleus accumbens: a neural correlate of behavioural sensitisation to cocaine. *Nat Neurosci*. 4: 1217-1223.

Thornton-Jones ZD, Vickers SP, Clifton PG (2005). The cannabinoid CB1 receptor antagonist SR141716A reduces appetitive and consummatory responses for food. *Psychopharmacology*. 179: 452-460.

Tsibulsky VL, Norman AB (1999). Satiety threshold: a quantitative model of maintained cocaine self-administration. *Brain Res*. 839: 85-93.

Tice DM, Bratslavsky E, Baumeister RF (2001). Emotional distress regulation takes precedence over impulse control: If you feel bad, do it!. *J Pers Soc Psychol*. 80: 53-67.

Tiffany ST (1990). A cognitive model of drug urges and drug-use behavior: role of automatic and nonautomatic processes. *Psychol Rev*. 97: 147-168.

Tiffany ST, Conklin CA (2002). The promise and pitfalls of animal and human models of relapse: comment on Leri and Stewart. *Exp Clin Psychopharmacol*. 10: 361-363.

Tipper SP (1985). The negative priming effect: inhibitory priming by ignored objects. *Q J Exp Psychol A*. 37A: 571-590.

Tobeña A, Fernandez Teruel A, Escorihuela RM, Zapata A, Nuñez JF, Ferre P, Sanchez R (1993). Límites de la habituación e inestabilidad de la extinción: implicaciones para los tratamientos basados en exposición a “señales de drogas”. En: Casas M, Gossop M,

*Recaída y prevención de recaídas: tratamientos psicológicos en drogodependencias.* Sitges, Ediciones en Neurociencias.

Treit D, Menard J, Royan C (1993). Anxiogenic stimuli in the elevated plus-maze. *Pharmacol Biochem Behav.* 44: 463-469.

Tsou K, Brown S, Sanudo-Pena MC, Mackie K, Walker JM (1998). Immunohistochemical distribution of cannabinoid CB1 receptors in the rat central nervous system. *Neuroscience.* 83: 393-411.

Tucci SA, Halford JC, Harold JA, Kirkham TC (2006). Therapeutic potential of targeting the endocannabinoids: implications for the treatment of obesity, metabolic syndrome, drug abuse and smoking cessation. *Curr Med Chem.* 13: 2669-26680.

Tzavara ET, Davis RJ, Perry KW, Li X, Salhoff C, Bymaster FP, Witkin JM, Nomikos GG (2003). The CB1 receptor antagonist SR141716A selectively increases monoaminergic neurotransmission in the medial prefrontal cortex: implications for therapeutic actions. *Br J Pharmacol.* 138: 544-553.

United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC), World Drug Report 2006, Vol 1: Analysis (Vienna, Austria: UNODC, June 2006), p 8.

Urigüen L, Perez-Rial S, Ledent C, Palomo T, Manzanares J (2004). Impaired action of anxiolytic drugs in mice deficient in cannabinoid CB1 receptors. *Neuropharmacology.* 46: 966-973.

Uslaner JM, Robinson TE (2006). Subthalamic nucleus lesions increase impulsive action and decrease impulsive choice – mediation by enhanced incentive motivation. *Eur J Neurosci.* 24: 2345-2354.

Valjent E, Mitchell JM, Besson MJ, Caboche J, Maldonado R (2002). Behavioural and biochemical evidence for interactions between delta 9-tetrahydrocannabinol and nicotine. *Br J Pharmacol.* 135: 564-578.

Valverde O (2005). Participation of the cannabinoid system in the regulation of emotional-like behavior. *Curr Pharm Des.* 11:3421-3429.

Van den Broek MD, Bradshaw CM, Szabadi E (1992). Performance of impulsive and non-impulsive subjects on two temporal differentiation tasks. *Person Individ Diff.* 13: 169-174.

Van Dyke C, Byck R (1982). Cocaine. *Sci Am.* 246: 128-141.

Van Gaal LF, Rissanen AM, Scheen AJ, Ziegler O, Rossner S; RIO-Europe Study Group (2005). Effects of the cannabinoid-1 receptor blocker rimonabant on weight reduction and cardiovascular risk factors in overweight patients: 1-year experience from the RIO-Europe study. *Lancet.* 365: 1389-1397.

Van Gaalen MM, Brueggeman RJ, Bronius PFC, Schoffelman ANM, Vanderschuren LJMJ (2006a). Behavioral disinhibition requires dopamine receptor activation. *Psychopharmacology.* 187: 73-85.

Van Gaalen MM, Van Koten R, Schoffelman ANM, Vanderschuren LJMJ (2006b). Critical involvement of dopaminergic neurotransmission in impulsive decision making. *Biol Psychiatry.* 60: 66-73.

Van Ree JM, Gerrits MAFM, Vanderschuren LJ (1999). Opioids, reward and addiction: an encounter of biology, psychology, and medicine. *Pharmacol Rev.* 51: 341-396.

Vanderschuren LJMJ, Everitt BJ (2004). Drug seeking becomes compulsive after prolonged cocaine self-administration. *Science.* 305: 1017-1019.

Vanderschuren LJMJ, Everitt BJ (2005). Behavioral and neural mechanisms of compulsive drug seeking. *Eur J Pharmacol.* 526: 77-88.

Vanderschuren LJ, Di Ciano P, Everitt BJ (2005). Involvement of the dorsal striatum in cue-controlled cocaine seeking. *J Neurosci.* 26: 1891-1892.

Vangsness L, Bry BH, LaBouvie EW (2005). Impulsivity, negative expectancies, and marijuana use: a test of the acquired preparedness model. *Addict Behav.* 30: 1071-1076.

Varvel SA, Anum EA, Lichtman AH (2005). Disruption of CB1 receptor signaling impairs extinction of spatial memory in mice. *Psychopharmacology.* 179: 863-872.

Verdejo-Garcia AJ, Perales JC, Perez-Garcia M (2007). Cognitive impulsivity in cocaine and heroin polysubstance abusers. *Addict Behav.* 32: 950-966.

Verrico CD, Jentsch JD, Roth RH, Taylor JR (2004). Repeated, intermittent delta(9) tetrahydrocannabinol administration to rats impairs acquisition and performance of a test of visuospatial divided attention. *Neuropsychopharmacology.* 29: 522-529.

Vinod KY, Hungund BL (2006). Role of the endocannabinoid system in depression and suicide. *Trends Pharmacol Sci.* 27: 539-545.

Viveros MP, Marco EM, File, SE (2005). Endocannabinoid system and stress and anxiety responses. *Pharmacol Biochem Behav.* 81: 331-342.

Vlachou S, Nomikos GG, Panagis G (2003). WIN 55,212-2 decreases the reinforcing actions of cocaine through CB1 cannabinoid receptor stimulation. *Behav Brain Res.* 141: 215-222.

Volkow ND, Fowler JS, Wolf AP, Hitzemann R, Dewey S, Bendriem B, Alpert R, Hoff A (1991). Changes in brain glucose metabolism in cocaine dependence and withdrawal. *Am J Psychiatry.* 148: 621-626.

Volkow ND, Fowler JS, Wang GJ, Hitzemann R, Logan J, Schlyer D, Dewey SL, Wolf AP (1993). Decreased dopamine D2 receptor availability is associated with reduced frontal metabolism in cocaine abusers. *Synapse.* 14: 169-177.

Volkow ND, Ding YS, Fowler JS, Wang GJ (1996). Cocaine addiction: hypothesis derived from images studies with PET. *J Addict Dis.* 15: 55-71.



Volkow ND, Fowler JS, Wang GJ (2003). The addicted human brain: insights from imaging studies. *J Clinl Invest.* 111: 1444-1451.

Volkow ND, Wang GJ, Telang F, Fowler JS, Childress AR, Jayne M, Ma Y, Wong C (2006). Cocaine cues and dopamine in dorsal striatum: mechanism of craving in cocaine addiction. *J Neurosci.* 14: 6588-6588.

Von Sydow K, Lieb R, Pfister H, Höfler M, Sonntag H, Wittchen HU (2001). The natural course of cannabis use, abuse and dependence over four years: a longitudinal community study of adolescents and young adults. *Drug Alcohol Depend.* 64: 347-361.

Wade TR, de Wit H, Richards, JB (2000). Effects of dopaminergic drugs on delayed reward as a measure of impulsive behavior in rats. *Psychopharmacology.* 150: 90-101.

Wagner FA, Anthony JC (2007). Male-female differences in the risk of progression from first use to dependence upon cannabis, cocaine, and alcohol. *Drug Alcohol Depend.* 86: 191-198.

Walker JM, Huang SM, Strangman NM, Tsou K, Sanudo-Pena MC (1999). Pain modulation by release of the endogenous cannabinoid anandamide. *Proc Natl Acad Sci USA.* 96: 12198-12203.

Weeks JR (1962). Experimental morphine addiction: methods for automatic intravenous injections in unrestrained rats. *Science.* 138: 143-144.

Weeks JR (1972). Long-term intravenous infusion. En: Myers RD, *Methods in psychobiology (Vol 2)*, New York, Academia Press.

Weeks JR, Collins RJ (1987). Screening for drug reinforcement using intravenous self-administration in the rat. En: Bozarth MA, *Methods of assessing the reinforcing properties of abused drugs*. New York. Springer-Verlag.

Weinshenker D, Schroeder JP (2006). There and back again: a tale of norepinephrine and drug addiction. *Neuropsychopharmacology.* 32: 1433-1451.

Weiss F, Maldonado-Vlaar C, Parsons L, Kerr T, Smith D, Ben-Shahar O (2000). Control of cocaine associated stimuli in rats: effects on recovery of extinguished rewards. The role of amygdala-ventral striatal subsystems. *Ann N Y Acad Sci USA*. 877: 412-438.

Weiss F, Martin-Fardon R, Ciccocioppo R, Kerr TM, Smith DL, Ben-Shahar O (2001). Enduring resistance to extinction of cocaine-seeking behaviour induced by drug-related cues. *Neuropsychopharmacology*. 25: 361-372.

Weiss, F (2005). Neurobiology of craving, conditioned reward and relapse. *Curr Opin Pharmacol* 5: 9-19.

Wenger GR, Wright DW (1990). Behavioral effects of cocaine and its interaction with d-amphetamine and morphine in rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 35: 595-600.

West R (2006). Theory of addiction. Blackwell Publishing Press.

Wexler BE, Gottschalk CH, Fulbright RK, Prohovnik I, Lacadie CM, Rounsaville BJ, Gore JC (2001). Functional magnetic resonance imaging of cocaine craving. *Am J Psychiatry*. 158: 86-95.

White FJ, Kalivas PW (1998). Neuroadaptations involved in amphetamine and cocaine addiction. *Drug Alcohol Depend*. 51: 141-154.

White SM, Lambe CJ (2003). The pathophysiology of cocaine abuse. *J Clin Forensic Med*. 10: 27-39.

Whitlow CT, Liguori A, Livengood BL, Hart SL, Mussat-Whitlow BJ, Lamborn CM, Laurienti PJ, Porrino LJ (2004). Long-term heavy marijuana users make costly decisions on a gambling task. *Drug Alcohol Depend*. 76: 107-111.

Wikler A (1973). Dynamics of drug dependence: implications of a conditioned theory for research and treatment. *Arch Gen Psychiatry*. 28: 611-616.

Wilson RI, Nicoll RA (2001). Endogenous cannabinoids mediate retrograde signaling at hippocampal synapses. *Nature*. 410: 588-292.

Wilson RI, Nicoll RA (2002). Endocannabinoid signalling in the brain. *Science*. 296: 678-682.

Wilson SJ, Sayette MA, Fiez JA (2004). Prefrontal responses to drug cues: a neurocognitive analysis. *Nat Neurosci*. 7: 211-214.

Winstanley CA, Theobald DE, Cardinal RN, Robbins TW (2004). Contrasting roles of basolateral amygdala and orbitofrontal cortex in impulsive choice. *J Neurosci*. 24: 4718-4722.

Winstanley CA, Baunez C, Theobald DE, Robbins TW (2005a). Lesions to the subthalamic nucleus decrease impulsive choice but impair autoshaping in rats: the importance of the basal ganglia in Pavlovian conditioning and impulse control. *Eur J Neurosci*. 21: 3107-3116.

Winstanley CA, Theobald DE, Dalley JW, Robbins TW (2005b). Interactions between serotonin and dopamine in the control of impulsive choice in rats: therapeutic implications for impulse control disorders. *Neuropsychopharmacology*. 30: 669-682.

Winstanley CA, Eagle DM, Robbins TW (2006). Behavioral models of impulsivity in relation to ADHD: translation between clinical and preclinical studies. *Clin Psychol Rev*. 26: 379-395.

Wise RA (2004). The activity of dopaminergic brain reward pathways is primarily responsible for their addictive properties. *Nat Rev Neurosci*. 5: 485-494.

Witkin JM, Tzavara ET, Nomikos GG (2005a). A role for cannabinoid CB1 receptors in mood and anxiety disorders. *Behav Pharmacol* 16: 315-331.

Witkin JM, Tzavara ET, Davis RJ, Li X, Nomikos GG (2005b). A therapeutic role for cannabinoid CB1 receptor antagonists in major depressive disorders. *Trends Pharmacol Sci.* 26: 609-617.

Wolf MC, Leander JD (2003). SR141716A, a cannabinoid CB1 receptor antagonist, improves memory in a delayed radial arm maze. *Eur J Pharmacol.* 477: 213-217.

Wood DM, Lal H (1987). Anxiogenic properties of cocaine withdrawal. *Life Sci.* 41: 143-146.

Woolverton WL, Kandel D, Schuster CR (1978). Effects of repeated administration of cocaine on schedule-controlled behavior of rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 9: 327-337.

Yang XM, Gorman AL, Dunn AJ, Goeders NE. (1992). Anxiogenic effects of acute and chronic cocaine administration: neurochemical and behavioral studies. *Pharmacol Biochem Behav.* 41: 643-650.

Xi ZX, Gilbert JG, Peng XQ, Pak AC, Li X, Gardner EL (2006). Cannabinoid CB1 receptor antagonist AM251 inhibits cocaine-primed relapse in rats: role of glutamate in the nucleus accumbens". *J Neurosci.* 26: 8531-8536.

Xie S, Furjanic MA, Ferrara JJ, McAndrew NR, Ardino EL, Ngondara A, Bernstein Y, Thomas KJ, Kim E, Walker JM, Nagar S, Ward SJ, Raffa RB (2007). The endocannabinoid system and rimonabant: a new drug with a novel mechanism of action involving cannabinoid CB(1) receptor antagonism -or inverse agonism- as potential obesity treatment and other therapeutic use. *J Clin Pharm Ther.* 32: 209-331.

Yokel RA (1987). Intravenous self-administration: response rates, the effects of pharmacological challenges, and drug preferences. En: Bozarth MA, *Methods of assessing the reinforcing properties of abused drugs*. New York. Springer-Verlag.

Yücel M, Lubman DI (2007). Neurocognitive and neuroimaging evidence of behavioural dysregulation in human drug addiction: implications for diagnosis, treatment and prevention. *Drug Alcohol Rev.* 26: 33-39.

Zavitsanou K, Garrick T, Huang XF (2004). Selective antagonist [3H]SR141716A binding to cannabinoid CB1 receptors is increased in the anterior cingulate cortex in schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 28: 355-360.

Zygmunt PM, Peterson J, Andersson DA, Chuang H, Sorgard M, Di Marzo V, Julius D, Hogestatt ED (1999). Vanilloid receptors on sensory nerves mediate the vasodilator action of anandamide. *Nature*. 400: 452-457.

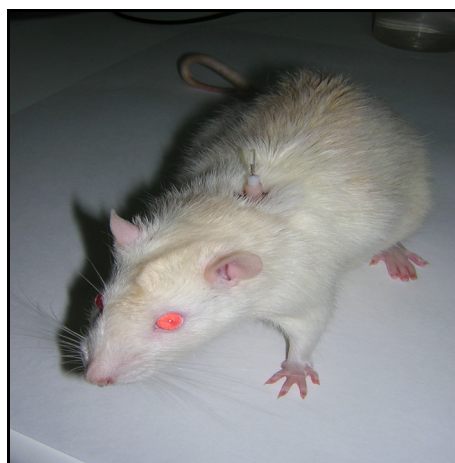
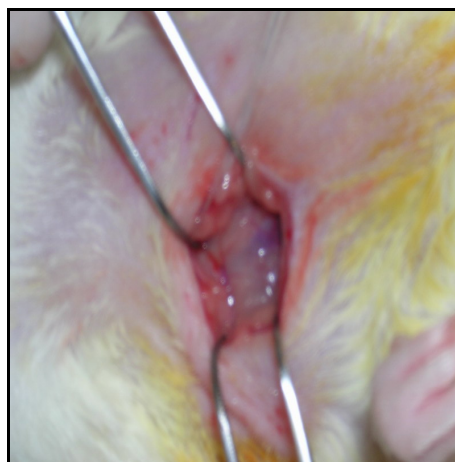
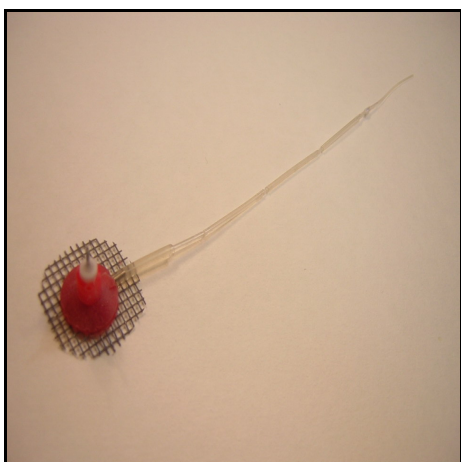
## **VII.- APÉNDICE: METODOLOGÍA**

---

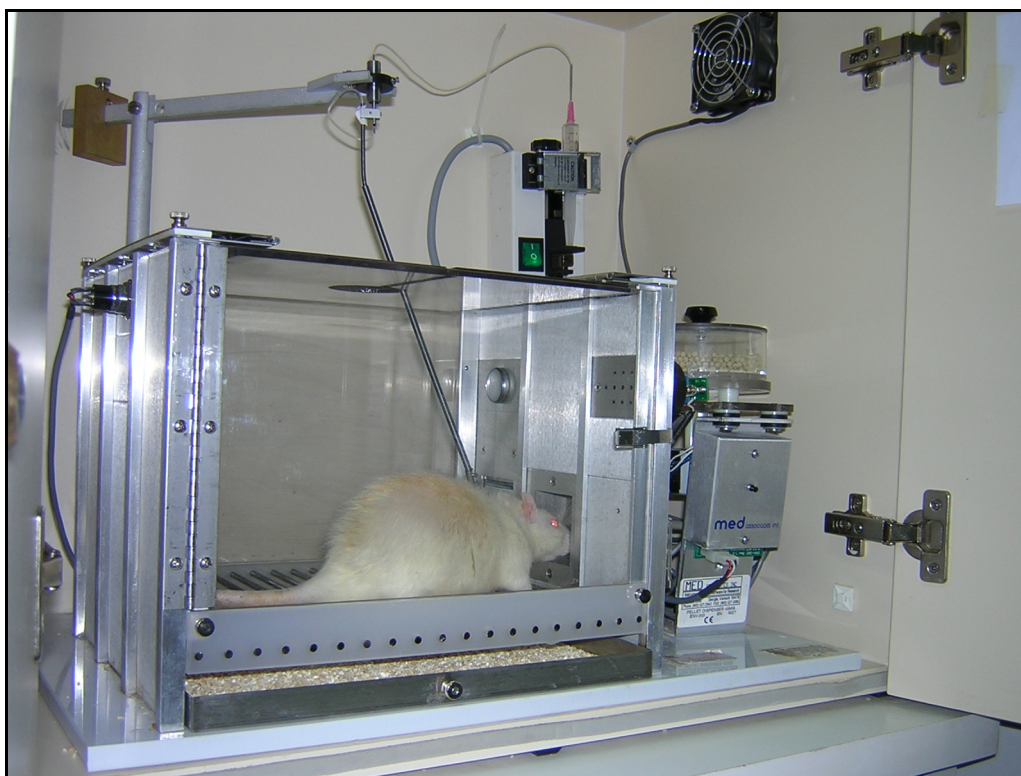
## VII.- APÉNDICE: METODOLOGÍA

### 1.- TÉCNICA DE AUTOADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA DE COCAÍNA

Una vez ensamblado el catéter de autoadministración intravenosa se procede a la cateterización o implantación quirúrgica del mismo en el animal (Caine *et al*, 1993). La cirugía tiene como objeto la implantación de un catéter de tubo *silastic* bajo anestesia en el interior de la vena yugular derecha externa avanzando su extremo terminal hasta el *atrium* derecho del corazón. El otro extremo del catéter, fijado a una cánula de acero, se sitúa subcutáneamente en la región media escapular del animal.



La técnica de autoadministración intravenosa fue desarrollada por primera vez por Jim Weeks (1962), el cual utilizó un mecanismo giratorio y una correa para permitir la inyección intravenosa de drogas en ratas sin casi ningún tipo de restricción. Posteriormente, se han realizado otras modificaciones (Pickens y Thompson, 1975; Smith y Davis, 1975; Weeks, 1972) y se ha aplicado a diferentes especies de animales.



Los experimentos de autoadministración intravenosa de cocaína son, en su mayoría, realizados en cajas de autoadministración operante o de Skinner

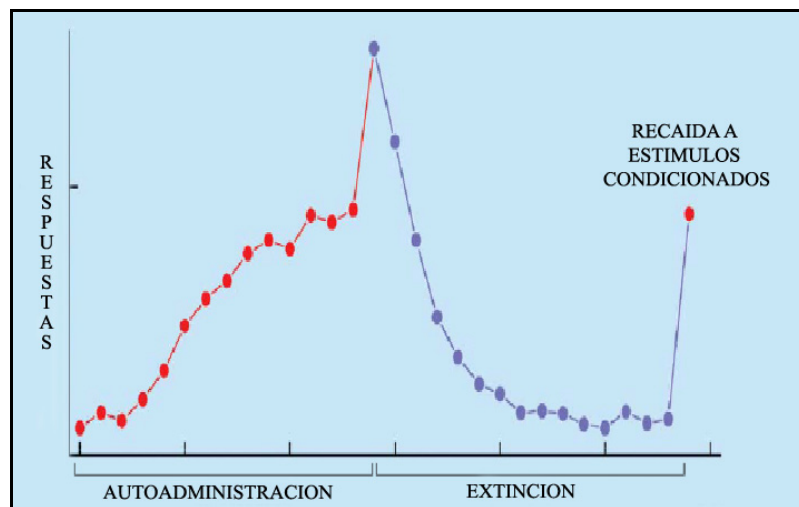
La mayoría de drogas que son adictivas en humanos son autoadministradas por animales de laboratorio, y aquellas drogas que no son autoadministradas por animales de laboratorio son, por lo general, no adictivas en el caso de los humanos (Deneau *et al*, 1969; Griffiths y Balster, 1979; Weeks y Collins, 1987; Yokel, 1987).

La autoadministración intravenosa de drogas aporta un modelo animal del comportamiento adictivo humano, a la vez que nos permite un acercamiento experimental al estudio de las propiedades reforzantes de las drogas de abuso. Tras varias décadas, la autoadministración de drogas de abuso por animales ha demostrado



ser un modelo útil del comportamiento adictivo (Goudie, 1991). Es de reseñar que esta técnica es el método más directo para determinar el reforzamiento de drogas. Consecuentemente, se hace posible así el estudio de las bases biológicas del abuso a drogas y el desarrollo de nuevos tratamientos para la adicción. Asimismo, otra aplicación esencial sirve para determinar si los nuevos fármacos psicoactivos desarrollan dependencia y constituyen de esta manera un peligro real para los pacientes.

Esta técnica ha resultado no sólo en un enorme corpus de conocimiento sobre la toma de drogas (*drug-taking behavior*) sino también sobre la conducta de búsqueda de drogas (*drug-seeking behavior*). Estos últimos modelos de búsqueda de droga han aportado mayor riqueza en la comprensión de los mecanismos comportamentales y neurobiológicos que subyacen a la adicción y a sus factores de vulnerabilidad. Con animales de laboratorio el modelo de recaída (a estímulos condicionados) nos permite diferenciar y estudiar las diferentes fases en el proceso de adicción. Primero, la iniciación y mantenimiento del consumo de drogas, en las que se produce el aprendizaje asociativo entre la droga y los estímulos emparejados a la misma (por lo general, una luz y/o tono). A continuación, un proceso de extinción, en la que la conducta operante de presionar la palanca es extinguida al dejar de ser recompensada (y no presentarse los estímulos condicionados). Finalmente, ante la presentación única de los estímulos condicionados se observa un incremento de la conducta operante de la búsqueda de la droga, tal como ocurre en humanos adictos.



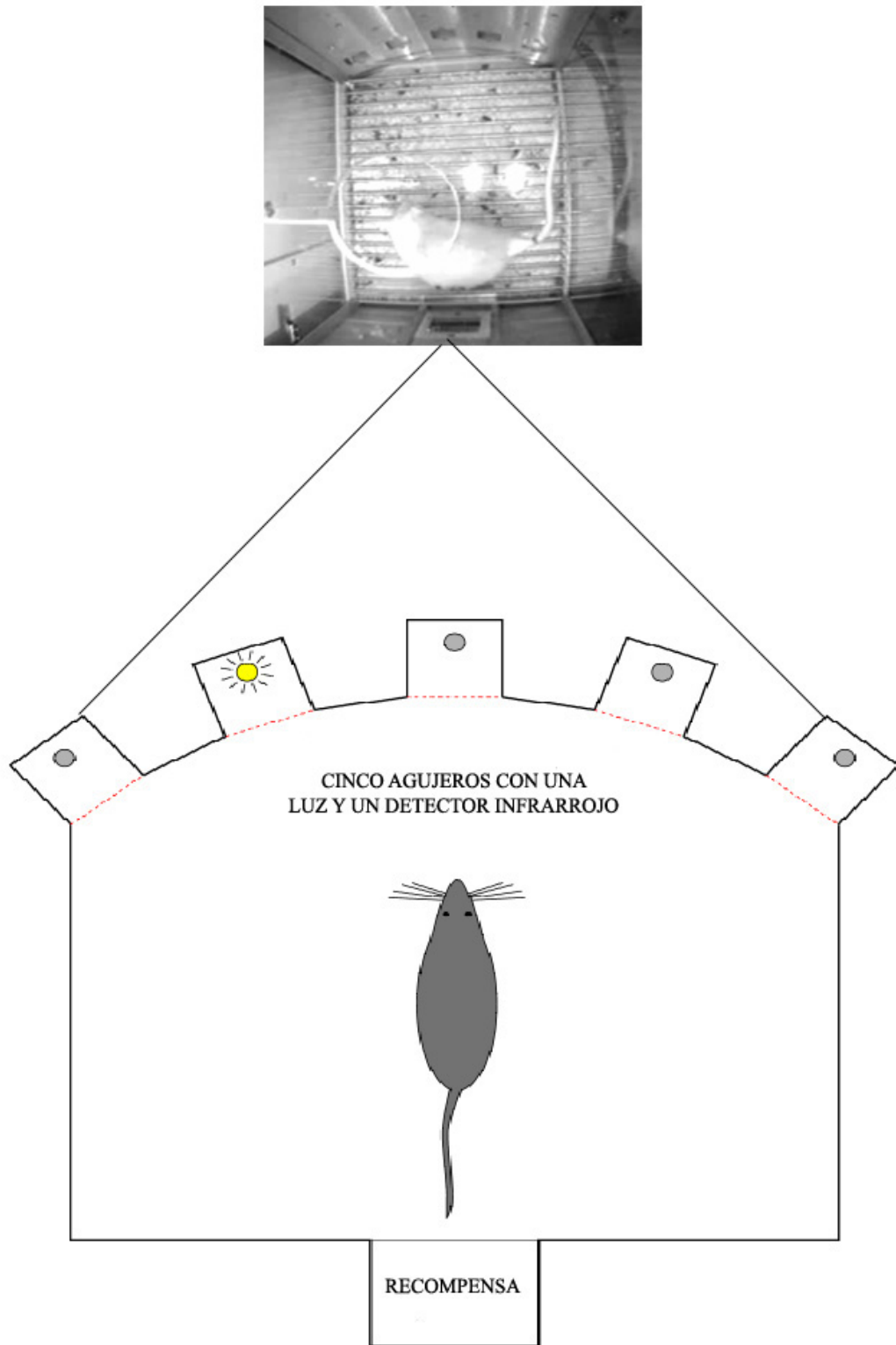
Modelo de recaída a estímulos condicionados (Modificado de De Vries y Schoffelmeer, 2005)

## 2.- LABERINTO ELEVADO EN CRUZ

Este test es considerado uno de los modelos más clásicos y ampliamente utilizados para el estudio de la ansiedad en roedores (Hogg, 1996). Esta basado en su tendencia aversiva, por naturaleza, hacia los lugares altos y con espacios abiertos (Treit *et al*, 1993), la cual es reducida tras la administración de drogas ansiolíticas (Dawson y Tricklebank, 1995).



### 3.- TÉCNICAS PARA EL ESTUDIO DE LA IMPULSIVIDAD



Todas las tareas para el estudio de la impulsividad fueron realizadas en la caja operante con cinco aperturas.

### 3.1.- TIEMPO DE REACCIÓN SERIAL DE ELECCIÓN CINCO

Tarea diseñada especialmente para el estudio de la atención selectiva, aunque no exclusivamente (Carli *et al*, 1983). Las ratas tienen que detectar y responder, bajo un cierto límite de tiempo, a la breve iluminación de luces presentes en cada uno de los cinco agujeros. Las respuestas prematuras, es decir, las respuestas que tienen lugar durante los intervalos entre ensayos y que ocurren anteriormente a la presentación de la información de los estímulos necesaria para iniciar una respuesta, son consideradas un índice de impulsividad (Cole y Robbins, 1994; Cole y Robbins, 1989).

---

#### PARAMETROS MEDIDOS POR 5-CSRT

---

Número de ensayos completados  
Proporción de respuestas  
correctas e incorrectas  
Errores de omisión: fallos en la respuesta  
ante los estímulos visuales  
(**Atención**)

Respuestas prematuras: respuestas  
durante el intervalo entre ensayos  
(**Impulsividad**)

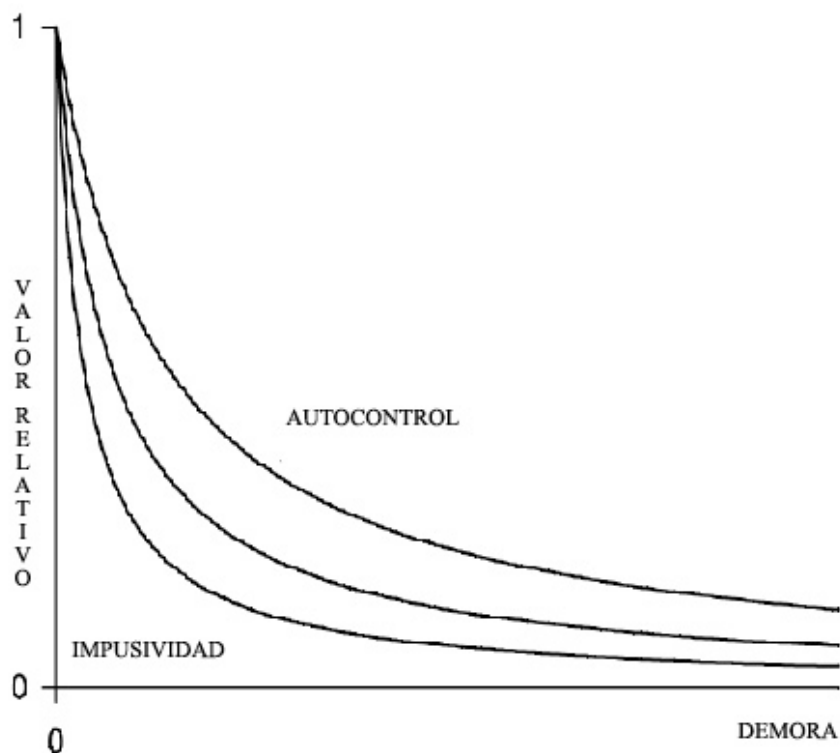
Latencia de respuesta  
Latencia para recoger los pellets  
conseguidos  
(**Motivación, actividad locomotora y percepción  
visual**)

Respuestas perseverativas: Respuestas  
repetidas en las aperturas  
(**Perserveración**)

---

### 3.2.- ELECCIÓN IMPULSIVA

La tarea de demora de la recompensa evalúa una forma de impulsividad cognitiva caracterizada por una preferencia por recompensas inmediatas, pero pequeñas, sobre recompensas demoradas, aunque mayores en valor (Rachlin y Green, 1972; Ainslie 1974; Logue, 1988). De esta manera, la elección impulsiva puede verse afectada tanto por una alteración en la magnitud de la recompensa, el retraso temporal o ambos (Ho *et al*, 1998). Una vez entrenadas las ratas, inicialmente tienden a elegir la apertura asociada a la recompensa mayor, pero a medida que avanza la demora, cambian su elección hacia la apertura asociada a la recompensa menor. Esto permite, para cada sesión, relacionar la preferencia subjetiva sobre el tipo de recompensa dependiendo de la demora (Evenden y Ryan, 1996), cuya función matemática es hiperbólica (Ainslie, 1975). Así, aquellos individuos que consigan tolerar la demora de la gratificación mostrarán mayor auto-control mientras los que se decanten por las recompensas menores serán más impulsivos.



### 3.3.- SEÑAL DE STOP

En esta tarea, las ratas son entrenadas a responder rápida y correctamente, primero en una apertura, y a continuación, en una de dos aperturas adyacentes; si bien, también pueden utilizarse palancas (Eagle y Robbins, 2003ab). El tiempo promedio para realizar esta respuesta es cuantificado y recibe el nombre de tiempo de reacción (TR) *go*. En el 25% de los ensayos de una sesión, una señal de stop (*i.e.* un tono) es presentada una vez que la rata haya respondido a la primera apertura, pero antes de hacerlo a la segunda. Si el animal inhibe su respuesta, recibirá una recompensa. En caso de que sea incapaz de inhibir esta respuesta pre-potente se le castiga sin recompensa y un período de tiempo (10 s) de espera para el siguiente ensayo.

Con el fin de evaluar la habilidad del sujeto para inhibir su respuesta se utiliza el tiempo de reacción a la señal stop, el cual es una estimación del tiempo requerido para la inhibición de la respuesta *go*. Como esta medida es indirecta, se utiliza el modelo “*horse-race*” para calcularlo; en base a la medida del tiempo de reacción *go* (Logan y Cowan, 1984).

